

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003 年 6 月 12 日 (12.06.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
**WO 03/048241 A1**

- (51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C08J 9/36 // A61L 27/16, 27/56, 27/44
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/10650
- (22) 国際出願日: 2001 年 12 月 5 日 (05.12.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2001-370188 2001 年 12 月 4 日 (04.12.2001) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 有限会社 ナイセム (NICEM, LTD.) [JP/JP]; 〒236-0005 神奈川県横浜市金沢区並木二丁目6番 11-301号 Kanagawa (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 野一色泰晴 (NOISHIKI, Yasuharu) [JP/JP]; 〒236-0005 神奈川県

横浜市金沢区並木二丁目6番 11-301号 Kanagawa (JP).  
但木 太 (TADAKI, Futoshi) [JP/JP]; 〒141-0001 東京都品川区北品川5丁目18-3の301 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA, Takashi et al.); 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37 森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).

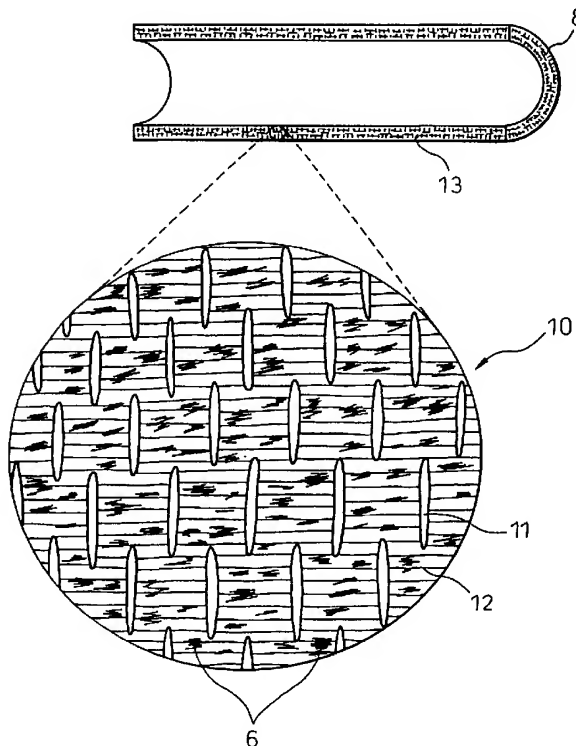
(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,

[続葉有]

(54) Title: HYBRID RESIN MATERIAL AND METHOD FOR PREPARATION THEREOF

(54) 発明の名称: ハイブリッド樹脂材料およびその製造方法



(57) Abstract: A hybrid resin material which comprises a porous structure comprising a hydrophobic resin and a soluble substance (or a hydrophilic substance) located in pores and/or interstices constituting said porous structure, wherein, for example, the soluble substance is soluble in a polar solvent and is also soluble in the polar solvent even in the state wherein said soluble substance is located in the interior of the porous structure.

[続葉有]



WO 03/048241 A1



LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

---

(57) 要約:

疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された溶解性物質（ないし親水性物質）とを少なくとも含むハイブリッド樹脂材料。このハイブリッド樹脂材料においては、例えば、前記溶解性物質が極性溶媒に溶解可能であり、且つ該溶解性物質が前記多孔質構造内に配置された状態においても前記極性溶媒に溶解可能である。

## 明 細 書

## ハイブリッド樹脂材料およびその製造方法

## 技術分野

本発明は、疎水性樹脂を含む多孔質構造と、該多孔質構造内の孔および／又は間隙内に配置された溶解性材料とを含むハイブリッド（混成）樹脂材料であって、多孔質構造内への配置により溶解性材料の適度な溶解遅延を得ることが可能な疎水性樹脂材料に関する。

本発明のハイブリッド樹脂材料は、例えば、生体内または生体表面への配置に適合性を有する材料として好適に使用可能であり、特に、生体内または生体表面で柔軟性を有しつつ（半）永久的な力学的強度を維持し、更に一定期間経過後には細胞親和性を必要とする生体の部位に植え込み可能な材料として好適に使用可能である。

本発明は、疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造内の孔および／又は間隙内に配置された親水性物質とを含むハイブリッド（混成）樹脂材料、およびその製造方法にも関する。従来においては、このような疎水性樹脂と親水性材料とを含むハイブリッド型材料の形成は極めて困難であった。

従来タイプのハイブリッド型人工臓器においては、該臓器を構成する人工血管は、例えば、疎水性の物質であるフッ素樹脂を延伸して無数の亀裂を生じさせた延伸性ポリテトラフルオロエチレン（以下、「e-P T F E」と略記する場合がある）等が用いられていたが、e-P T F Eの特徴たる亀裂部分から血清成分が漏れ易いという欠点があった。これに対して、本発明によれば、親水性物質（ヒアルロン酸等）を疎水性物質の繊維間隙に配置することが極めて容易となり、ハイブリッド型人工臓器等から実質的に血清成分が漏れ

ないようにすることが極めて容易となる。

## 背景技術

本発明のハイブリッド樹脂材料は、多孔質構造内への配置による溶解性材料の適度な溶解遅延が要求される分野、および／又は多孔質構造を含む材料を使用しつつ、「液体および／又は流体の漏れ」防止技術が関連する分野に特に制限なく適用可能であるが、ここでは説明の便宜のために、先ず、生体内または生体表面への配置に適合性を有する材料（特に、一定期間経過後には細胞親和性を必要とする部位に植え込み可能な材料）、ないしは、疎水性の多孔質構造の医用材料に関連する背景技術について述べる。

生体内または生体表面で柔軟性を有しつつ、（半）永久的な力学的強度及び一時的な物質移動遮断作用、液状物質漏れ防止作用等が必要とされ、更に一定期間経過後には細胞親和性も必要とする部位に植え込まれる場に適した材料としては、人工骨、人工血管、パッチ材料等の領域において、既にいくつかの技術が開発されている。

このような材料の代表的な技術としては、コラーゲン被覆人工血管が挙げられる。このコラーゲン被覆人工血管は生体内で柔軟性を保ちつつ、（半）永久的に生体内における内圧によっても破裂しない強度を維持し、植え込み直後には内腔からの血液の漏れ、詰まり物質の壁を介しての移動を遮断し、更に植え込み後長期間経過すると、人工血管を被覆していたコラーゲンが生体内で吸収され、生体に由来するホストの細胞がコラーゲンを置換して、結果として該人工血管が生体親和性を有するようになる。

既に実用化されているコラーゲン被覆人工血管の技術としては数種が知られているが、代表的な技術としてHoffman, Jr., Harmonらによる米国特許第5, 197, 977号がある。このコラーゲン被



覆人工血管は、柔軟な合成高分子材料製繊維材料で作成された筒状で、 $120\text{ mmHg}$  ( $1\text{ mmHg} = 133.322\text{ kPa}$ ) における透水性が  $3,000\text{ l/min}\cdot\text{cm}$  以下の有孔性の構造体に、コラーゲンで作成した泥状の生体内分解性物質をマッサージをしつつ塗り込むことによって該構造物をコラーゲンで被覆し、更に、被覆したコラーゲンを不溶化するために該コラーゲンを化学架橋剤によって架橋しておく技術である。これによって、被覆・架橋されたコラーゲンが一時的に人工血管を介する生体内での物質の移動、例えば血液の漏れ等を阻止し、一定期間経過後には該コラーゲンが生体内で分解され（生体由来の細胞がコラーゲンを置換し）、結果として上記人工血管が細胞親和性を発揮することとなる。最終的には、生体内では分解されない筒状の合成高分子材料が（半）永久的な力学的強度を維持する。

この米国特許 5, 197, 977 号では、合成高分子基材としてポリエチレンテレフタレータの繊維を用い、その繊維を編み、または織ることで筒状構造物を作製し、更にその筒状構造物にコラーゲンを被覆している。この技術を用いたコラーゲン被覆人工血管は現在全世界で臨床的に使用されており、これにより、人工血管植え込み直後の人工血管を介する出血問題など、これまで困難視されていたいくつかの問題点が解決されている。

この他、上記に関連する技術として、米国特許第 4, 842, 575 号、国特許第 5, 108, 424 号、国特許第 5, 131, 907 号、国特許第 5, 609, 631 号、米国特許第 5, 693, 098 号、米国特許第 4, 416, 208 号、米国特許第 5, 895, 419 号、米国特許第 4, 581, 028 号、米国特許第 5, 716, 660 号、米国特許第 4, 581, 028 号、等が挙げられる。

これらの特許のうち、米国特許第 4, 842, 575 号、米国特許第 5, 108, 424 号等は、人工血管壁からの血液の漏れを予防するために、生体内分解性のコラーゲンと、生体内非分解性のダクロン繊維（Dupont 社商標；ポリエステル製繊維）の筒状構造物とを組み合わせたものである。また、米国特許第 5, 716, 660 号は、生体内分解性のコラーゲンと、熱延伸した e-P T F E の筒状構造物とを組み合わせたものである。更に、米国特許第 4, 581, 028 号では感染防止を目的として、金属も同時に混合、Trappingにより固定化している。また、米国特許第 5, 131, 907 号では、血管内皮細胞の播種に有利な状況を作るための目的でも、コラーゲンの被覆が用いられている。

ダクロン、すなわちポリエステル繊維で作成した人工血管のみでは、構造が単純なことにより表面積は少なく、物質の吸収、吸着量に限りがあるために、このような合成高分子材料に抗血栓性薬剤や細胞成長因子、抗感染性物質、抗生物質等の機能性物質を吸着させ、生体内で徐放出させることは困難である。しかしながら、人工血管に生体内分解性物質であるコラーゲン等が被覆されていれば、コラーゲン等がこれら薬剤等の機能性物質を吸着し、そして該人工血管が生体内に植え込みされた後に、該コラーゲンの生体内における分解により、その中に吸着されていた機能性物質等が徐放出可能となるので、人工血管に多機能を持たせることが可能となる。このような技術が臨床的に有用であることは、既に周知である。

従って、ポリエステル繊維を主とした生体内非分解性材料と、生体内分解性材料とを含むハイブリッド型材料は、上記したような機能性の付与が可能な点から、人工血管のみならず多くの領域で使用されており、今後もその利用範囲が広がるものと予測されている。

人工血管としては、上記ポリエステル繊維を用いた製品の他に、

現在 e-P T F E（延伸・多孔化 P T F E）製の人工血管があり、主として末梢血管領域で使用されている。この e-P T F E 人工血管と生体内分解性材料とのハイブリッド化の技術としては、K. Okita による米国特許第 4, 1 9 3, 1 3 8 号がある。これは、e-P T F E 人工血管のフィブリル間隙に水溶性物質を染み込ませ、その水溶性物質を水不溶性にする技術である。この技術によって、e-P T F E 人工血管の内部のみならず表面も親水性物質で覆われる。このための生体内吸収性物質として、K. Okita はポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキシド、ポリビニルアミン、ポリエチレンイミン、ポリアクリルおよびポリメタクリル酸、セルロースのヒドロキシエステルまたはカルボキシエステル、ポリサッカライド等を単独または混合して使用することを推奨している。e-P T F E 人工血管は、元来は疎水性物質であるが、この処置によって、e-P T F E 人工血管に親水性を賦与することが可能となる。

K. Okita の推奨するポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキシド、ポリビニルアミン、ポリエチレンイミン、ポリアクリルおよびポリメタクリル酸、セルロースのヒドロキシエステルまたはカルボキシエステル、ポリサッカライド等のポリマーは親水性が強いため、疎水性を有する e-P T F E 人工血管に弾かれて、e-P T F E フィブリルの狭い間隙には入りにくい。この欠点を補うため、K. Okita は、始めに e-P T F E 人工血管をメタノール、エタノール、アセトン、または界面活性剤の中に浸すという前処置を施し、次にこの e-P T F E 人工血管を水中に浸して前記メタノール、エタノール、アセトン、または界面活性剤を水と置換させ、次に親水性の生体内分解性材料の液中に上記水置換処理後の e-P T F E 人工血管を浸すという 3 段階方

式を推奨している。

K. Okitaは、e-P T F E人工血管のフィブリル間隙に挿入されたこれらのポリマーの不溶化方法として熱架橋方法を採用しており、この目的のためにe-P T F E人工血管を150～160℃に加熱している。更にK. Okitaは、アセチル化、エステル化等で水溶性ポリマーを巨大分子として不溶化をすることをも推奨している。

すなわち、本来が疎水性であるe-P T F E製の人工血管においては、如何にして親水性の生体内分解性材料とのハイブリッド状態を作るか、如何にして生体内分解性材料をe-P T F E人工血管の壁内に絡めておくか、如何にして生体内分解性材料を不溶化させるか、等がそれぞれの技術上における工夫のポイントであった。

このようにしてe-P T F E人工血管のフィブリル間隙に親水性材料を挿入される技術が開発されたが、K. Okitaが採用したように親水性材料を熱架橋すると、K. Okita自身も指摘するように、親水性の生体内分解性材料の特徴である親水性の性質が低下し、含水性が落ちる場合もある。更に、このようにして親水性物質をe-P T F E人工血管のフィブリル間隙に挿入した場合であっても、e-P T F E人工血管の表面は親水性となるが、e-P T F E人工血管壁内部はあくまでも疎水性のままである。したがって、e-P T F E人工血管のフィブリル間隙に親水性物質が挿入されても、e-P T F E人工血管全体を含水性としてヒドロゲル形成性を与える状態とさせることが困難な場合もある。

上記したK. Okitaの技術とは別に、e-P T F E人工血管と生体内分解性材料とのハイブリッド化の技術としては、K Weadock、DJ Lentz、RJ Zdrahalaらによる米国特許第5,665,114号および米国特許第5,716,660号がある。彼らはe-P T F E人工血管のフィブリルの間隙にpH7.4付近では不溶性である天

然由来 (natural origin) の生分解性材料を充填する技術を開発した。

彼らは、天然由来の生分解性材料としてコラーゲン、ゼラチン、フィブロネクチン、ラミニン、およびこれらの混合物を推奨し、更にK. Okitaが米国特許第4, 193, 138号で推奨したポリビニルアルコールも含めて、ポリエチレンオキシド、ポリエチレングリコール、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、およびヒドロキシプロピルセルロース等も推奨している。

これらの中でも、彼らは特にコラーゲンを入れることを重要視している。天然由来で全く化学処理を行っていないコラーゲン線維は、pH 7.4付近では水に溶けにくい。この点において、K. Weadock、DJ Lentz、RJ Zdrahala らによる米国特許第5, 665, 114号および米国特許第5, 716, 660号では、コラーゲンの水素イオン濃度の差による形態変化を利用している。すなわち、コラーゲンは酸性領域ではイオン強度が低くなるので、膨潤・溶解状態になり易い。そこで、この酸性状態においてコラーゲンを溶解させてe-P T F E人工血管のフィブリルの間隙に充填させ、その後に水素イオン濃度を変化させて中性領域に戻しコラーゲンを不溶化させ、更にホルマリン蒸気によってコラーゲンを化学的に架橋処理する不溶化処置を追加している。

この方法は、等電点がアルカリ領域にあるコラーゲンにおいては有効であるが、他の物質、例えば、彼らの推奨するフィブロネクチン、ラミニン、ポリビニルアルコール等では水素イオン濃度の変化によって形態や水溶度に顕著な違いが生じることはないため、酸性領域における溶解と言う点では効果は少ない。従って、彼らの方法は天然由来で全く化学処理を行っていないコラーゲン線維に対して

のみ有効な特別の手段である。

前述したように e-P T F E 人工血管は疎水性であり、これらに対して親水性物質の水溶液を滲み込ませるためには、特別の工夫が必要である。また、たとえ疎水性物質である e-P T F E 人工血管のフィブリルの間隙にコラーゲン等が充填させられても、このような親水性物質は、常に疎水性物質である e-P T F E の表面から解離しようとする性質があるため、不安定な状態にある。

換言すれば、水素イオン濃度を変化させることによってコラーゲン等水溶性を高めても、疎水性物質である e-P T F E 人工血管のフィブリルの間隙には染み込まない。このような問題点を解決するために、K Weadock、DJ Lentz、RJ Zdrahala らは米国特許第 5, 7 1 6, 6 6 0 号では e-P T F E 人工血管を予めプラズマ処理し、その表面を改質することによって e-P T F E の親水性を高める処置を推奨している。これは K. Okita による米国特許第 4, 1 9 3, 1 3 8 号における 3 段階手法とは異なる手段であるが、親水性が高められた e-P T F E 人工血管のフィブリル間隙に対しては、親水性物質を侵入させ易くなる可能性がある。

彼らは更に、e-P T F E 人工血管の一方の末端を閉じて、他の末端からコラーゲン溶液等を圧力をかけて注入している。この注入時間と圧力差は厳密ではないが 1 ~ 1 0 分間であり、e-P T F E 人工血管の有孔性によっても異なるが、人工血管の孔がコラーゲン等で満たされるまで該注入を行っている。

この方法では、加圧によってコラーゲン等が e-P T F E 人工血管の孔の中に積層され、孔のスペースをほぼコラーゲン等が占める状態としている。従って、e-P T F E 人工血管とコラーゲン等の生体内分解性物質との関係は機械的な絡まりである。しかしながら、この際におけるコラーゲン等の生体内分解性物質の溶液濃度につ

いての記載はない。

したがって、生体内分解性物質の体積的占拠によって、e-P T F E人工血管の孔は塞がれる状態であると考えられる。これは有孔性人工血管の被覆方法として極めて一般的な考え方である。しかしながら、この方法では疎水性を有するe-P T F E人工血管の狭いフィブリル間隙に親水性を有するコラーゲン溶液を注入するには、それなりの圧力をかける必要がある。

一方、生体内分解性材料の不溶化方法としては、米国特許第5, 197, 977号に示されているように、ホルムアルデヒドが一般的に使用されている。他方、グルタルアルデヒドやジアルデヒド澱粉、ポリエポキシ化合物、イソシアネート化合物等の化学薬品もそれぞれ架橋作用を有することから、このような生体内分解性材料の不溶化の目的に一般的に用いられている。

しかしながら、最近の報告では、コラーゲン被覆され、ホルムアルデヒド等の化学架橋剤で不溶化処置を受けた人工血管の植え込みにあたって、ホルムアルデヒド等の化学架橋剤が細胞毒性を有することが報告されている(DP Speer et al.: J. Biomed. Mater. Res. 14; 753~764, 1980)。一般に架橋剤による細胞毒性は以前から報告されており、植え込み後、1年以上経過してもその細胞毒性が生じることも報告されている。

K. Okitaによる米国特許第4, 193, 138号及びK. Weadock、DJ Lentz、RJ Zdrahalaらによる米国特許第5, 665, 114号および米国特許第5, 716, 660号の技術でいずれも工夫を凝らしている点は、e-P T F E人工血管の表面及びフィブリル間隙に充填させた物質を生体内で不溶化させることである。

K. Okitaによる米国特許第4, 193, 138号では熱架橋を用いて十分な架橋が入るように、150度~160℃の加熱を行って

おり、水溶性の材料を水不溶性の物質に変化させている。しかしながら、水溶性の材料を完全に水不溶性とするには十分な熱架橋を行わねばならず、それによって親水性材料は疎水的となる欠点があった。そのため親水性材料であっても含水性が低下して、材料全体が硬化する欠点が見られた。K. Okitaによる米国特許第4, 193, 138号でも指摘されているように、架橋程度が低い場合には溶解性物質は部分的に溶解性のままである。

他方、「液体および／又は流体の漏れ」防止技術が関連する分野に関しては、疎水性樹脂の多孔質構造を有する医用材料において従来より、フッ素樹脂である延伸性のポリテトラフルオロエチレン（e-P T F E）の人工血管やパッチ材料が多用されている。今日、臨床的には、これらは疎水性物質の多孔質構造のまま使用されている。しかしながら、人工血管の植え込みを行った場合でも見られるように、多孔質構造であるが故に、血液成分中の血清成分が人工血管等から漏れ出すことが避けがたい。一旦このような血液成分の漏れが生じると、人工血管植え込み後3週間程度は「漏れ」状態が持続する傾向があり、臨床的に好ましくない結果をもたらすことが多い。

この問題を解決するために、多孔質構造中に親水性の物質をしみ込ませる技術が開発された。その代表的な方法は、米国特許4, 193, 138号である。この技術においては、ポリビニールアルコール（P V A ; ポバール）を、上記したe-P T F Eにしみ込ませたり、e-P T F E上にコーティングする等の処理を行っている。

他方、生体内で分解吸収されるコラーゲン等を使用する技術も報告されているが、上記したように、かなりの圧力をコラーゲン溶液にかけてe-P T F E内に強制的に入れたとしても、充分の量のコラーゲンを入れることは困難であった。



加えて、例えば e-P T F E 内にコラーゲンを入れこむことができたとしても、その実際の注入は、本発明者らの実験によれば、e-P T F E の表層のみに止まる傾向があり、ないしは e-P T F E 内のコラーゲンそのものの分布が不均質となり易いという欠点があった。

上記した米国特許 4, 1 9 3, 1 3 8 号（親水性物質が P V A）、米国特許 5, 6 6 5, 1 1 4 号および米国特許 5, 7 1 6, 6 6 0 号（いずれにおいても、親水性物質がコラーゲン）においては、このような親水性物質を疎水性樹脂の狭い間隙に押し込むことを記載している。しかしながら、実際に加圧によって親水性物質を疎水性材樹脂の狭い間隙に押し込んだ場合、十分な量の親水性物質を入れるために高い圧をかけると、疎水性樹脂の構造が破壊される可能性がある。例えば、e-P T F E 製の人工血管の場合、4 0 0 m m H g 以上の圧力をかけると、該人工血管は膨らみ始めて、人工血管の内径が変化し、その人工血管は実際には臨床的に使用不可能となる。したがって、現実には、圧力のみを用いて疎水性材樹脂中に強引に親水性物質を押し込むことは困難であった。

この欠点を一部改良した技術としては、米国特許 4, 1 9 3, 1 3 8 号が挙げられる。この技術においては、まず、e-P T F E のグラフト (graft) をエタノールまたは界面活性剤に接触させ、その後親水性物質を押し込む方法が採用されている。このような方法を実行すると、当初は無理なく親水性物質が e-P T F E グラフトのフィブリル繊維間隙に入る。しかしながら、親水性物質が e-P T F E グラフト内に入り始めてしばらくすると、界面活性剤やエタノール等が親水性物質により押し出されて e-P T F E の表面から脱離し、界面活性剤やエタノール等の効果が徐々に消失するため、実際には、親水性物質をフィブリル繊維間隙内へ入れ込む量には

限界があった。

本発明者らの実験によれば、米国特許 4, 193, 138 号の推奨する方法で実際にこのような界面活性剤やエタノールを利用して親水性物質を押し込む作業を行った後に、ヒト体内の血流環境をシミュレートした条件下で e-P T F E グラフトの壁からの水の漏れ状態を検討した場合には、やはり漏れ現象が観察された。このような実験結果は、親水性物質による e-P T F E グラフトの被覆が、臨床的使用には充分でないことを示している。

したがって、疎水性材料内に必要かつ十分な量の親水性物質を押し込むことが可能な、現実的な手段は未だに見出されていない。

一般に、布製の人工血管においては、コラーゲン被覆の技術が日常的に使用されている。この場合、布製人工血管に使用するダクロン（デュポン社製）等のポリエステル繊維は適度の疎水的な性質を有する。このコラーゲン被覆の技術を用いた場合には、ポリエステル繊維の繊維間隙が広い場合には、親水性であるコラーゲン溶液をその間隙に押し込むことは可能である。しかしながら、繊維間隙が極めて狭い場合は、それが実質的に不可能である。従って、布製人工血管のコラーゲン被覆は、繊維間隙にしみ込むよりは、人工血管の繊維束間にある程度のコラーゲンを配し、更に布の内面や外面にコラーゲン層を作製して、人工血管全体を被覆する状態で、実際のコラーゲン被覆が行われている。

したがって、繊維間隙への親水性物質をくまなく（すなわち、より均一に）配置することは実現されていない。他方、例えば医療材料として好適に使用される e-P T F E の場合には、その繊維間隙が極めて狭いことから、この極めて小さく、且つ狭い間隙に親水性物質を配することが要求される。前述した米国特許 4, 193, 138 号で示されるエタノールまたは界面活性剤で e-P T F E を濡

らしておく技術を用いた場合には、表面近くの間隙には親水性物質が入り込み、その表面近くの内腔面に層状付着がみられるが、それは何かの機械的な刺激で剥がれ、e-P T F Eの壁から血清が漏れる可能性が大きい。

上述したように、現実には、臨床において、疎水性樹脂で作製されたe-P T F Eグラフトの人工血管等における液状成分の「漏れ」を防止する技術は見出されていない。したがって、このような人工血管を使用する際には、患者は血清の漏れに悩まされているのが現状である。

#### 発明の開示

本発明の目的は、上記した従来技術の欠点を解消したハイブリッド樹脂材料を提供することにある。

本発明の他の目的は、溶解性物質の生体内での溶解性を実質的に維持しつつ、該溶解性物質が多孔性疎水性樹脂の孔ないし間隙に充填された後には、その溶解性物質の徐放出を可能とするハイブリッド材料を提供することにある。

本発明の他の目的は、疎水性の多孔質構造内に、液状成分の「漏れ」を十分に防止可能な態様で親水性物質を含むハイブリッド樹脂材料およびその製造方法を提供することにある。

本発明者は鋭意研究の結果、従来におけるようにpH変化、架橋剤の使用等により溶解性物質（例えばタンパク質）を構成する個々の官能基（例えばタンパク質を構成する個々のアミノ酸の官能基）自体に、いわば一次元的に水不溶性を付与することを必須とするのではなく、疎水性樹脂からなる多孔質構造を構成する孔ないし間隙中に溶解性物質を配置する際に、極性溶媒を用いた二次元または三次元的な構造変化を与えて、むしろ二次元または三次元的な変性と

類似の変化を一時的に溶解性物質に与えることが、上記目的の達成のために極めて効果的なことを見出した。

本発明の一態様に従う疎水性樹脂ハイブリッド材料は上記知見に基づくものであり、より詳しくは、疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された溶解性物質とを少なくとも含み；前記溶解性物質が極性溶媒に溶解可能であり、且つ該溶解性物質が前記多孔質構造内に配置された状態においても前記極性溶媒に溶解可能なものである。

更に、本発明によれば極性溶媒に溶解可能な溶解性物質の極性溶媒への溶解または分散液を、疎水性樹脂からなる多孔質構造の孔および／又は間隙内に配置することにより、該溶解性物質が前記多孔質構造内に配置された状態においても前記極性溶媒に溶解可能なハイブリッド材料を形成するハイブリッド樹脂材料の製造方法が提供される。

本発明者の知見によれば、上記構成を有する本発明の疎水性樹脂ハイブリッド材料において好適な効果が得られる理由は、以下のよう

に推定される。

すなわち、本発明においては、溶解性物質（通常、その分子中に親水性部分と疎水性部分とを有する）を疎水性樹脂からなる多孔質構造に配置するに際して、該溶解性物質は極性溶媒（例えば、含水溶媒）中に溶解ないし分散された状態にある。この際、溶解性物質は、極性溶媒の極性（または親水性－疎水性のバランス）に対応して、該溶解性物質を構成する親水性基および／又は疎水性基の溶媒に対する個々の方向性が、完全なる親水性溶媒たる100%の水の中にある場合（親水性基が、ほぼ完全に外側の溶媒方向を向いた状態）とは異なる二次元または三次元的な配置（コンフォメーション）、すなわち、親水性基がある程度溶解性物質の分子内部の内側方向

を向き、疎水性基がある程度外側の溶媒方向を向いた状態を取っていると推定される。

本発明においては、極性溶媒中の溶解性物質が上記したような特有のコンフォメーション（100%の水中よりはやや疎水的な親水性－疎水性の方向性のバランス）を取っているため、疎水性樹脂からなる多孔質構造内にもスムーズに配置可能となると推定される。

他方、このように多孔質構造内に配置された溶解性物質のコンフォメーションは、所定の環境（例えば、生体内の親水的環境）下で、徐々に該環境に対応したコンフォメーション（例えば、水中にある時と同様に、親水性基が、ほぼ完全に外側の溶媒方向を向いた状態）に戻ると推定される。しかしながら、この際には、溶解性物質は既に疎水性樹脂からなる多孔質構造内に配置された後であるため、その溶解性は、疎水性樹脂からなる多孔質構造という「場」の影響を強く受ける（例えば、水分子の溶解性物質への接近が、疎水性樹脂に基づく反発により抑制ないし低減される）こととなると推定される。本発明においては、このような「場」の効果により、溶解性物質の好適な「遅延した溶解性」が得られると推定される。

別の観点から見れば、本発明の特徴は、例えば哺乳類の生理的条件（典型的にはpH7.4）下であっても、含水極性溶媒の利用により溶解性物質の溶解ないし分散性を、疎水性樹脂の孔ないし間隙内に充填が容易なようにコントロール可能にすることを利用して、溶解性物質をマイルドに且つ実質的にintactに疎水性樹脂の孔ないし間隙内に充填できることを見いだしたことにある。この技術の組み合わせによって、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に溶解性物質が充填された後にも実質的にintact故の溶解性を保持しつつ、それでいて疎水性樹脂の「場」の効果に基づき急速には溶解せず、徐々に溶解性材料を疎水性樹脂の孔ないし間隙から徐々に

生体内へ放出させることが可能となると推定される。

本発明者は上記した知見に基づき更に研究を進めた結果、従来の多孔質構造を有する材料において十分な「漏れ」防止作用が得られていなかったのは、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に、親水性物質が十分に配置されていなかったためであることを見出した。

本発明の他の態様に従うハイブリッド樹脂材料は上記知見に基づくものであり、より詳しくは、疎水性樹脂からなる多孔質構造体と、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された親水性物質とを少なくとも含み；前記疎水性樹脂と親水性物質との合計質量に対する親水性物質の質量比が、乾燥状態で2%以上であるものである。

本発明によれば、更に疎水性樹脂からなる多孔質構造体と、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された生体内分解性の親水性物質とのハイブリッド樹脂材料を作製するための製造方法であって、

(a) 親水性物質のハイドロゲルと、界面活性剤とを少なくとも含むミセル懸濁液を作製し；

(b) 多孔質構造の片面又は両面から陽圧又は陰圧の圧力差を与えて、前記ミセル懸濁液を疎水性樹脂内に注入し；

(c) 前記界面活性剤を除き、疎水性樹脂によって囲まれた空間内に前記親水性物質を残すステップを含む製造方法が提供される。

本発明者の知見によれば、上記構成を有する本発明の疎水性樹脂ハイブリッド材料において好適な効果が得られる理由は、以下のよう

に推定される。

すなわち、一般に、疎水性樹脂材料の孔および／又は間隙が小さくなればなるほど、界面張力のために、その中には親水性の物質は

入りにくくなる。特に粘度の高い親水性物質は、疎水性樹脂によって形作られた狭い空間（例えば、 $10\mu\text{m}^3$  程度の空間）には、実質的に入らない。これに対して、本発明においては、（例えば、予め親水性物質を含む特定の分散状態を形成することにより）疎水性樹脂を含む多孔質構造内を構成する孔および／又は間隙内に、「漏れ」防止に効果的な量の親水性物質を配置することが可能となる。換言すれば、本発明においては、上記した構成により、親水性物質を十分に含ませて、多孔質構造を「目詰まり」させることが可能となる。

したがって本発明によれば、疎水性樹脂を含むフィブリル構造の間隙に親水性物質の十分な量を配置することが可能となり、（例えば、該親水性物質が含水性を発揮して該間隙内等で膨潤することにより）フィブリル構造間隙等の通過に起因する、液状成分の漏れ現象を防ぐことが可能となる。

これに対して、上記した先行技術において十分な漏れ防止効果が得られなかった理由は、本発明者らの知見によれば、以下のように推定される。

すなわち、本発明者らの実験によれば、前述した米国特許 4, 193, 138 号の推奨する方法でこの作業を念入りに行った後に、e-P T F E グラフト壁断面を切片を作製して、走査型電子顕微鏡で観察したところ、e-P T F E グラフト壁断面の内腔側の一部に親水性物質が押し込まれており、その内腔面上に厚く親水性物質が層状に付着し、内面被覆状態となっていた。この本発明者らによる実験実験の結果、水の漏れ対策は、米国特許 4, 193, 138 号の推奨する方法においては、実際には、e-P T F E グラフト壁断面の内腔側に押し込まれた少量の親水性物質と、その表面を覆う親水性物質層によって行われることが判明した。

内面に付着した親水性物質の層を取り除いた後の、多孔質構造の孔の中に押し込まれた親水性物質の質量を測定したところ、e-P T F E グラフトに付着した親水性物質の全体量の約 3 % であり、多孔質構造内に入らずに、該構造の表面に付着しているだけの親水性物質が全体量の約 97 % であった。他方、後述する疎水性樹脂の質量 (a グラム) と、多孔質構造の孔および／又は間隙内に配置された親水性物質 (b グラム) との合計質量に対する親水性物質の質量比 ( $b / (a + b)$ ) の表現を用いた場合には、この場合に e-P T F E グラフトに付着した親水性物質の量は、 $b / (a + b) < 1\%$  であった。したがって、先行技術 (米国特許 4, 193, 138 号) によれば、この約 1 % を超える親水性物質は、壁内部には入り難いことが判明した。

更に、人工臓器 (血管等) として使用されるこのような被覆を行った e-P T F E グラフトが、それ自体に対して実際に加えられる操作において、如何なる変化を示すかに関する実験を行った。

すなわち、本発明者らによる実験によれば、上記被覆を行った米国特許 4, 193, 138 号に従って作製した e-P T F E グラフトに対して、実際の手術中に頻繁に生じ得る程度の機械的刺激を加えた (すなわち、引き延ばしたりピンセット等でつまむ等の取り扱い程度の操作を行った) ところ、表面に層状に付着していた親水性物質は容易に剥がれ、その後の人工血管壁からの水の漏れは顕著に増大した。この実験から、米国特許 4, 193, 138 号で推奨するエタノールまたは界面活性剤に接触させた後に親水性物質を押し込む方法においては、表面への被覆は見かけ上は可能であっても、e-P T F E グラフト内部における親水性物質とのハイブリッド状態は不完全であることが判明した。

このような不完全なハイブリッド状態にある多孔質材料を用いた



場合には、本発明の知見によれば、血清や体液中に存在するリポ蛋白等の親水性および疎水性の両方の性質を有する両親性物質が多孔質構造の壁内部に侵入し、壁全体を親水化させることによって、血清中の親水性の液性成分が限りなく漏れる現象が、極めて生じ易くなる傾向が見られた。

これに対して、上記構成を有する本発明のハイブリッド樹脂材料を用いた場合には、多孔質構造（e-P T F E等）壁の内部のフィブリル間隙に十分な量の親水性物質が配置されているため、手術中に操作する程度の機械的刺激にも耐えて、多孔質構造の壁からの漏れ現象を実質的に完全に防ぐことが可能となる。この理由は、本発明者の知見によれば、本発明のハイブリッド樹脂材料において、ひとたび多孔質構造のフィブリル間隙に親水性物質が充分量押し込まれると、親水性物質が含水性を発揮してその場（多孔質構造内）で膨潤して、いわゆる「目詰まり効果」を発揮することに基づき、液体成分が多孔質構造内を通過する「漏れ」現象を防ぐためと推定される。

#### 図面の簡単な説明

図1は、疎水性樹脂からなる多孔質構造の人工血管壁に、生体内溶解性材料を含浸させる方法の一例を示す模式斜視図である。

図2Aは、図1の方法で用いた人工血管の長軸方向の断面の一例を示す。図2Bは、図2Aの断面の拡大図の一例を示す。

図3Aは、図1の方法により得ることが可能な溶解性材料が充填された人工血管壁の長軸方向の断面の一例を示す。図3Bは、該断面の拡大図の一例を示す。

上記した図における参照記号は、以下の意味を有する。

1 … 人工血管

- 2 …細長い透明な塩化ビニール袋 2
- 3 …三方活栓
- 4 …コネクティブチューブ
- 5 …注射器
- 6 …生体内溶解性材料
- 7 …止血鉗子
- 8 …長軸方向に切断された人工血管
- 9 …人工血管の長軸方向の割断面
- 10 …人工血管の長軸方向の割断面の拡大図
- 11 …人工血管の結節部分
- 12 …人工血管のフィブリル部分
- 13 …生体内溶解性材料が絡められた人工血管の長軸方向の割断面
- 14 …生体内溶解性材料が絡められた人工血管の長軸方向の割断面の拡大図

発明を実施するための最良の形態

以下、必要に応じて図面を参照しつつ、本発明を詳細に説明する。以下の記載において量比を表す「部」および「%」は、特に断らない限り質量基準とする。

(ハイブリッド樹脂材料)

本発明のハイブリッド樹脂材料は、疎水性樹脂からなる多孔質構造体と、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された溶解性ないし親水性物質とを少なくとも含む。

(溶解性物質を含むハイブリッド樹脂材料)

本発明の第1の態様に従うハイブリッド材料は、疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造を構成する孔ないし間隙内に配置

された溶解性物質とを少なくとも含む。この溶解性物質は極性溶媒（例えば含水極性溶媒）に溶解可能であり、且つ、前記多孔質構造内に配置された状態においても極性溶媒（例えば含水極性溶媒）に溶解可能である。ここに「含水極性溶媒に溶解可能」とは、50%エタノール-蒸留水溶液に完全に溶解可能であることをいう。溶解性物質を単独で含水極性溶媒に完全に溶解するために必要な溶解時間（S）と、疎水性樹脂材料内に配置された状態における溶解性物質を含水極性溶媒に完全に溶解するために必要な溶解時間（H）との比（ $H/S$ ）は、1.2以上、更には1.5以上（特に2.0以上）であることが好ましい。

本発明において、このような溶解性の有無、および溶解時間は、例えば、以下のようにして好適に確認することが可能である。

#### <溶解性・溶解時間の確認方法>

溶解すべき物質の所定量（例えば、約1g）をガラス製のビーカーに取り、その溶解性物質の体積の1000倍の50%エタノール-蒸留水溶液を該ビーカーに静かに加えて、室温（25℃）でスターラーで1秒間に1回攪拌しつつ静置する（この際、50%エタノールを調製するための蒸留水としては、pH約7～7.4の範囲内のものを用いる。この場合、蒸留水のpHは、必要に応じて、pH調整剤等で調整してもよい。）。

この状態で溶解性物質の状態を目視で継続的に観察し、溶解性物質がその原型を全く留めない状態まで消失する時間をもって「完全に溶解」した時間と定義する。この完全に溶解した時間が24時間以内である場合に、本発明において「溶解性あり」と定義する。

上記した疎水性樹脂の多孔質構造内に配置された溶解性物質の溶解時間（H）の測定に際しては、特に記載のない限り（疎水性樹脂＋溶解性物質）の体積の1000倍の50%エタノール-蒸留水溶

液を用いることとする。

（親水性物質を含むハイブリッド樹脂材料）

本発明の第1の態様に従うハイブリッド材料は、疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造を構成する孔ないし間隙内に配置された親水性物質とを少なくとも含む。この態様においては、前記疎水性樹脂の質量（a グラム）と、多孔質構造の孔および／又は間隙内に配置された親水性物質（b グラム）との合計質量に対する親水性物質の質量比（ $b / (a + b)$ ）は、乾燥状態で2質量%以上である。この質量比（ $b / (a + b)$ ）は、更には5質量%以上（特に5～40質量%）であることが好ましく、特に7～35質量%、更には10～30質量%であることが好ましい。この質量比は、以下のようにして測定することが可能である。

＜親水性物質の質量比の測定方法＞

多孔質構造を構成する疎水性樹脂の質量を（例えば、電子秤で）測定し、「a グラム」とする。他方、適当な方法（例えば、後述するように、親水性物質を界面活性剤とともにミセル状態として、疎水性樹脂の多孔質構造内に圧入し、次いで純水内に漬ける事によって親水性物質を疎水性樹脂の孔および／又は間隙内で膨潤させることによって流失させない状態にしつつ界面活性剤を取り除く、もしくは化学的、又は物理的手段で架橋することによって不溶化することで親水性物質を疎水性樹脂の孔および／又は間隙内から流失させない状態にしておいて100%エタノールによって界面活性剤を取り除く。このいずれかの方法によって界面活性剤を除いた後、凍結乾燥する）により親水性物質を多孔質構造の孔および／又は間隙内に配置させた後に質量を測定して、（a + b）グラムとする。このようにして測定した2つの質量の差から、多孔質構造に配置された親水性物質の質量（b グラム）を計算して、質量比  $b / (a + b)$

を求める。

#### <表面上の親水性物質の除去>

この質量比  $b / (a + b)$  測定の際に、親水性物質を多孔質構造内に配置させた後のハイブリッド材料の表面（上記の多孔質構造が管状構造等である場合のように、内表面および外表面を有する場合には、それらの内表面および外表面）に「多孔質構造の孔および／又は間隙内に配置されていない」（換言すれば、ハイブリッド材料の表面上に付着した）親水性物質が認められる場合には、この親水性物質を除くことが必要である。この親水性物質の除去法は特に制限されないが、例えば、スパチュラ等の器具で、ハイブリッド材料の表面上に付着した親水性物質（通常は白色または有色）を削り取ればよい。この場合、多孔質構造を構成する疎水性樹脂が低付着性の樹脂（例えば、PTFE＝ポリテトラフルオロエチレン）である際には、このような削り取りにより、親水性物質が層状で剥がれ易い傾向がある。他にも、上述したエタノール洗浄等で、ハイブリッド材料の表面上に付着した親水性物質を除去してもよい。

上記したいずれの方法による場合であっても、ハイブリッド材料の表面上に付着した親水性物質の存在が肉眼で判別出来ない程度であれば、該表面上の親水性物質は「実質的に無い」と判断することが可能である。

上記した親水性物質の質量比は、疎水性樹脂の多孔質構造の形態によっても、ある程度の影響を受ける可能性がある。すなわち、多孔質の孔の部分が大きければ大きいほど、水の漏れは大きくなり、その水の漏れを防ぐには、大量の親水性物質を疎水性樹脂の多孔質構造中に配置することが好ましい。

しかしながら、e-PTFEグラフト等の多孔質構造の疎水性樹脂の場合、多孔質の孔の部分が大きくなれば壁構造が弱くなるため

、むやみに孔を大きくすることは好ましくないため、孔の好適なサイズには上限がある。本発明者の試算によれば、疎水性樹脂部分と孔の部分との比（体積比）が1対9以上に孔の部分が多くなると、力学的には弱くなり過ぎる傾向があることが判明している。したがって、疎水性樹脂部分と孔の部分との比が1：9以下の疎水性樹脂の多孔質構造体における親水性物質とのハイブリッド化が好ましい。

他方、多孔質構造体における孔のサイズが小さくなると、壁構造が硬くなり、屈曲性も悪くなって、手術時等の際における操作性が低下する傾向がある。臨床用途においては、e-P T F E グラフトの場合にはフィブリル長さが約30ミクロン程度のe-P T F E グラフトが使用されており、この疎水性樹脂部分と孔の部分との比（体積比）が4対6程度であるものが好適に使用される。

本発明者の実験によれば、この範囲内の多孔質構造の疎水性樹脂の孔の部分に親水性物質を配置する適切な量は、ハイブリッド構造を作る場合、その総質量（疎水性樹脂と親水性物質との合計質量）の5%以上の親水性物質であることが判明した。このように、5%以上の親水性物質を多孔質構造内に配置することにより、漏れ現象を好適に防止することができる。この親水性物質の量比は、より効果的な漏れ防止の点からは、7%以上、更には10%以上であることが好ましい。

更に、多孔質構造内に配置すべき親水性物質の量を最大限に増大させることも可能である。しかしながら、多孔質構造の疎水性樹脂中の親水性物質の量を過度に増大させると、e-P T F E 等の疎水性樹脂グラフトの機械的特性が変化して、グラフトが硬くなる傾向が生じ易くなる場合がある。本発明者の知見によれば、親水性物質の質量比は、50%以下が好ましく、更には40%以下（特に35

%以下)であることが好ましい。

(疎水性樹脂)

本発明においては、生体内における長期安定性と生体適合性の点から、溶解性物質ないし親水性物質を保持すべき多孔質構造を構成する材料として、疎水性樹脂を用いる。

上記した溶解性物質ないし親水性物質を一定時間保持することが可能である限り、本発明で使用可能な疎水性樹脂は特に制限されないが、酸素、窒素またはイオウ原子を含む極性基(例えば、 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NH_2$ 基、 $-SO_3H$ 基、等)の1分子当たりの平均の合計数を $P_n$ とし、その樹脂の重量平均分子量を $M_w$ とした場合に、それらの比( $P_n/M_w$ )で好適に規定することができる。臨床的に疎水性樹脂が多用されているという観点からは、この $P_n/M_w$ は、 $1/100$ 以下(更には $1/200$ 以下、特に $1/300$ 以下)の樹脂が好適に使用可能である。上記特性を有する限り、ホモポリマー、コポリマー、ポリマーブレンド、複合化ポリマー等のポリマーの態様は問わない。

疎水性樹脂の好適な例としては、含フッ素樹脂、含ケイ素樹脂、ポリオレフィン樹脂、ポリエステル樹脂等が挙げられる。このような含フッ素樹脂としては、例えば、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)樹脂等が挙げられる。また、上記含ケイ素樹脂としては、例えば、シリコーン樹脂等が挙げられる。上記ポリオレフィン樹脂としては、例えば、ポリプロピレン(PP)樹脂等が挙げられる。

生体内における安定性ないし毒性の点からは、これらの中でも含フッ素樹脂、含ケイ素樹脂が好ましい。

(多孔質構造)

本発明においては、上記した疎水性樹脂を多孔質構造として用い

る。その多孔質構造の孔および／又は間隙内への溶解性物質ないし親水性物質の充填、および一定時間の保持が可能である限り、本発明で使用可能な多孔質構造は特に制限されないが、上記多孔質構造はフィブリル（すなわち、繊維含有）構造を有していることが好ましい。このようなフィブリル構造は、特に制限されない。フィブリル構造の具体例としては、例えば、織物、編み物、ネット状構造、不織布、フェルト等が挙げられる。

布製の場合には、ANSI / AMI (Association for the Advancement of Medical Instrumentation American National Standard Institute, Inc.(1994年)) に規定するWater Permeabilityで、6000～50mlの範囲以下、更には2000～50mlの範囲程度（特に1000～100mlの範囲程度）であることが好ましい。e-P T F E等のように水を透過させない材料の場合には、Fibril lengthで300μm～5μm、更には100～20μm（特に50～25μm）であることが好ましい。

本発明においては、上記した疎水性樹脂が、複数の結節と、各結節間を結ぶフィブリル構造とを交互に有するフッ素樹脂、又は延伸ポリテトラフルオロエチレン（e-P T F E）であることが特に好ましい。

（溶解性物質）

上記した疎水性樹脂の多孔質構造の孔ないし間隙内に配置すべき溶解性物質は、その分子中に親水性部分と疎水性部分とを有することが好ましい。ここに、「親水性部分」とは、酸素、窒素またはイオウ原子を含む極性基（例えば、-OH、-COOH、-NH<sub>2</sub>基、-SO<sub>3</sub>H基、等）を有する部分（例えば、モノマーユニット）をいい、「疎水性部分」とは、このような極性基を有しない部分をいう。溶解性物質の全部または一部がタンパク質である場合、



親水性部分は親水性アミノ酸から構成され、疎水性部分は疎水性アミノ酸から構成される。

上記溶解性物質は、含水有機溶媒中と水中とで異なる溶解性を示す限り、特に制限されない。

溶解度は、以下の方法で好適に測定可能である。

#### <溶解度の測定方法>

溶媒：50%エタノールまたは蒸留水

pH：7～7.4（市販のpH計、例えば、Orion社製、商品名model 230Aを用いて確認可能）

溶解性物質の溶媒への溶解方法：スターラーで100回／分撹拌し、徐々に溶媒内に入れる。

上記溶解性物質は、生体内への配置可能な多孔性構造への充填および徐放出を容易とする点からは、pH7.4における50%エタノールへの溶解度が0.1%以上、更には0.5%以上、特に1.0%以上であることが好ましい。

本発明において好適に使用可能な溶解性物質としては、例えば、タンパク質として後述するゼラチン、サクシニール化ゼラチン、アルキル化ゼラチン等が挙げられる。この溶解度測定においては、必要に応じて、一たん加温（50℃程度）してもよい。

#### （蒸留水の溶解性）

本発明における「蒸留水」中の溶解性としては、溶解性物質の100倍の容量のpH7～7.4付近の蒸留水に室温でスターラーで100回／分で撹拌するという条件下で、1週間以内に原型を全く留めない状態まで消失した場合には、溶解性物質が蒸留水に対しても溶解性があると定義する。

#### （生理的条件下の溶解性）

更に生理的な条件下で、特にコラーゲンやゼラチン等の溶解性を

調べるに際しては、溶解すべき物質の少なくとも100倍の容量の0.1%のコラーゲナーゼのpH7.4のリン酸バッファー溶液に於いて、37℃で保温し、12時間毎にスターラーで100回転／分の条件で攪拌した際に、72時間以内に溶解すべき物質が原型を全く留めない状態まで消失した場合をもって、溶解性があると定義することとする。

フォルムアルデヒドまたはグルタルアルデヒドで架橋したコラーゲン膜、例えば牛の心膜等は、このような条件では全く溶解性を示さない。他方、135℃で24時間熱架橋したゼラチンスポンジの膜は、溶解性を示す。

本発明において使用可能な溶解性物質（例えば、pH7.4付近で溶解可能な物質）は、その種類、形態等は特に制限されない。同じ物質であっても、前述したように、条件を変えることで溶解速度を制御させることも可能である。

#### （溶解性物質の具体例）

本発明で使用可能な溶解性物質の具体例としては、生体関連物質としては例えば、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、生分解性（3-ヒドロキシルブレート-4-ヒドロキシルブチレート）ポリエステル重合体、ポリジオキサン、コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、キトサン、キチン、磷脂質、セルロース、フィブロイン、フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、プロタミン、遺伝子操作によって哺乳類以外の生物から作成させたコラーゲン、遺伝子操作によって哺乳類以外の生物から作成させたゼラチン、遺伝子操作によって哺乳類以外の生物から作成させたヒアルロンサン、遺伝子操作によって哺乳類以外の生物から作成させたラミニン、遺伝子操作によって哺乳類以外の生物から作成させたコンドロイチン硫酸、遺伝子操作によって哺乳類以外の

生物から作成させたアルブミン、遺伝子操作によって哺乳類以外の生物から作成させた生体内分解性物質、ポリビニールアルコール、ポリアクリルアミド、ポリビニールアミン、ポリエチレンイミン、ポリビニールポリピロリドン、ポリアクリル酸、およびそれらの誘導体、等が挙げられる。これらは必要に応じて溶解性の程度を調節した後に、使用してもよい。本発明で使用可能な溶解性物質は、前記した「溶解性」の条件を満たす限り、生体関連物質に制限されない。

本発明で使用可能な溶解性物質は、前記した「溶解性」の条件を満たす限り、天然由来材料であっても、合成高分子由来材料であっても、遺伝子工学的に生物に作らせた材料であっても、あるいはそれらの誘導体であってもよく、また必要に応じて、それらを組み合わせることによる混合物、複合体、集合体であってもよい。

上記した生体関連物質の中には、生分解性（3-ヒドロキシブレートー4-ヒドロキシブチレート）ポリエステル重合体の様に、人為的にバクテリアに産生させるポリマーもあり、更に同じムコ多糖類でもヒアルロンサンのような分子量の大きなものからコンドロイチン硫酸のように小さな分子のものもある。また荷電を有するものや有しないものもある。例えば、ヒアルロン酸は負に荷電しており、プロタミンはプラスに荷電している。ゼラチンも弱いながらもプラスに荷電している。これらを混合して使用すると、高分子同志のイオン結合によって巨大分子集合体を形成することから、溶解速度は更に緩徐となる。

（変性、修飾等）

本発明においては、上記した溶解性物質は実質的にintactで疎水性樹脂からなる多孔質構造内に配置することが可能である。しかしながら、この溶解性物質が前述した溶解性の条件（および／又は、

「pH 7.4 付近で溶解性を有する」もしくは「哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される」という条件）を満たす限り、必要に応じて、化学的处理等によって該物質の側鎖等を変化させてもよい。この際、物質の一部にアシル基、アルキル基、フェニール基、等の疎水性基がつくような化学修飾をうけると、物質は疎水的となり、水による溶速度が低下する。他方、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に、疎水的であるが故に入り込み易くなり、更に安定した充填が可能となる。

また、その様な化学修飾を受ける物質の一部にヒドロキシ基、カルボキシ基、アミノ基、カルボニル基、スルフォ基、等の親水性基が導入されれば、その物質は親水度が増して、水に対する溶解性は向上する。更に、このような物質が疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填されると、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に水を導入し易くなって、溶解性物質の溶解速度を速めることに貢献する。

従って、溶解されうる物質の溶解速度の制御や疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填されている際の安定度等を考慮して、物質毎にヒドロキシ基、カルボキシ基、アミノ基、カルボニル基、スルフォ基、等の親水性基やアシル基、アルキル基、フェニール基、等の疎水性基等を側鎖として付着ないし結合させることが可能である。

（生理的条件下で溶解可能な物質を用いる態様）

本発明において pH 7.4 という哺乳類の生理的条件下であっても溶解可能であるが、溶解が急速であるものと極めて緩やかであるものが存在することを利用する態様について述べる。

例えば、単純なゼラチンを例にとって説明すると、ゼラチンは pH 7.4 付近で加温した水に溶解可能であり、1%程度の濃度であ

れば、通常は5分以内に水中に溶解する。しかし30%の濃度になると、ゼラチンが膨潤して完全に水中に溶解するには約30分間以上を要する。これはゼラチンの様な高分子物質において、個々のゼラチン分子間隙に水分子が滲入し、個々のゼラチン分子が膨潤し、互いのゼラチン分子間隙が開き、結果として個々のゼラチン分子が水中に拡散し、ゼラチン分子が水中で徐々に低濃度になって行く（すなわち、均一に溶解する）ためには、ある程度の時間が必要であることに由来する。

例えば、ゼラチンの分子の一部にカルボキシル基を付着させたサクシニール化ゼラチンでは、ゼラチン分子の親水性が増大するため、水の分子が個々のゼラチン分子間に入り易くなり、したがってゼラチン分子は膨潤し易くなって溶解性は促進される。一方、ミリスチレン酸を付着させたアルキル化ゼラチンではゼラチン分子の疎水性が強くなり、個々のゼラチン分子間に水分子は入りにくい。従って、アルキル化ゼラチンの膨潤は遅くなり、結果的には溶解速度は低下して溶解が遅延し、30%溶液にするためには約24時間必要である。これらはゼラチンの側鎖の化学修飾によって水との親和性を変化させた結果生じた現象であるが、このような変化が生じたにしても、サクシニール化ゼラチンもアルキル化ゼラチンも、ともにpH7.4付近では溶解可能な物質であることには変わりはない。

更に、このようなpH7.4付近で溶解性を有する溶解性物質を如何なる形態で取り扱うかによっても、その溶解速度は変化する。例えば、湿潤状態にある10%ゼラチン（用いるゼラチンの質量を、水に対する濃度に換算したもの；以下この「ゼラチン」の項の記載において同様）はpH7.4付近の水中に投入して室温に放置すると約1時間で完全に溶解する。一方、10%ゼラチンを凍結乾燥してスポンジ状にすると、これを溶解するのに約2時間必要である

。更に10%ゼラチンを一旦水溶液として自然乾燥させて作成した膜では、それを完全に溶解させるのに48時間以上必要である。従って、ゼラチンの種類をアルキル化ゼラチンにしたりサクシニール化ゼラチンにすることで更に溶解に要する時間は変化する。しかしながら、湿潤状態にある10%ゼラチンも凍結乾燥してスポンジ状にしたゼラチンも、自然乾燥させて作成した膜状となったゼラチンも、ともにpH7.4付近では溶解可能な物質であることには変わりはない（すなわち、本発明においては、いずれの形態でも使用可能）。

これらの物質は全て生理的条件の一つであるpH7.4付近で溶解可能な物質であるが、形態や濃度、形成条件等の違いでその溶解速度に大きな差異が生じる場合がある。

このようなpH7.4付近で溶解性を有する物質は哺乳類の生体内に埋入されたときに生理的条件下で体液内に拡散したり、食細胞によって処理されたり、あるいは酵素によって分解されることによって時間の経過にともなって消失して行く。したがって、本発明において「pH7.4付近で溶解性を有する物質」と「哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質」とは、ほぼ同一の意味あいを有することとなるが、「pH7.4付近」という表現は単に溶媒内の水素イオン濃度を規定しているのみである（*in vitro*、*in vivo*のいずれか、または温度の規定もない）。一方、「哺乳類生体内の生理的条件下」という表現は、水素イオン濃度の他に温度も規定し、更に生体内の種々の酵素の存在や食細胞の存在もあるため、極めて厳密な条件下と言えよう。本発明は、これらの「pH7.4付近で溶解性を有する物質」と、「哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質」とのいず

れにも適応可能である。

(変性処理)

上述したように、本発明においては、溶解性物質の化学的な変性処理は必須ではない。しかしながら、溶解性物質に対して、前述した溶解性の条件（および／又は「pH 7.4 付近での溶解性を維持する」もしくは「哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される」という条件）を満たす範囲内で、特性架橋処理等の化学的な変性処理を適宜施してもよい。

このように架橋処理等をした場合には、溶解性物質の分子内での部分的な架橋に留めておくことで、溶解性や分解性を維持しつつ、その溶解に要する時間を遅くさせることが可能である。この考え方は、K Weadock, DJ Lentz, RJ Zdrahalaらによる米国特許第5,665,114号および米国特許第5,716,660号において示される溶解性物質のpHの変化及びフォルムアルデヒドを用いた不溶化処理と異なり、本発明ではあくまでもそのような不溶化処置ではなくて、「pH 7.4 付近での溶解性を維持する」ことが架橋処理の好適な条件である。

(架橋の程度)

架橋の程度を示す指標としては、架橋方法がフォルムアルデヒドやグルタルアルデヒド等の化学架橋剤を用いている場合には、吸収性物質の分子内のアミノ基が主としてその反応に使用されるため、アミノ基の残量を測定することで架橋率を測定することが可能である。より具体的には、例えば、TNBS法（2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸を用いる方法；文献Kakada, ML, Liener I E, Determination of available lysine in proteins. Ann Biochem. 27:273-280. 1969. Trinitrobenzene sulfonic Acid (TNBS) methodを参照）によって架橋率を測定可能である。しかしながら、紫外線や

ガンマー線等による物理的架橋の場合には、（アミノ基を架橋に使用していないので）例えばコラーゲンやゼラチン等の場合には、コラーゲナーゼを用いて、該酵素による分解性を検討することで架橋の程度を測定可能である。

本発明者の実験によれば、例えば、精製した２％のアテロコラーゲンで作成したスポンジの場合、フォルムアルデヒドで架橋し、TNBS法での測定で９０％のアミノ基が使用された状態（高度の架橋状態）では、０．１％のコラーゲナーゼによる消化で、完全に消化させるのに４８時間必要である。しかしながら、TNBS法で４０％の架橋率の場合には０．１％のコラーゲナーゼによる消化で、完全に消化させるのに６時間必要であった。

本発明において、溶解性物質の溶解性維持の点からは、必要に応じて架橋を行う場合でも、部分的な架橋に止めておくことが好ましい。より具体的には、コラーゲンやゼラチンの場合には０．１％のコラーゲナーゼによる消化で、完全に消化させるのに１２時間以内（更には６時間以内）の程度の軽い架橋に留めておくことが好ましい。このように、pH 7.4付近で溶解可能な多くの種類の物質を、いずれでも単独で使用しても、混合状態で使用しても、軽度の架橋処理を施して使用しても、本発明ではそれぞれの物質の濃度や形態、製造条件、架橋の程度、等の諸条件を考えることによって目的を達成することが可能である。

#### （親水性物質）

本発明における親水性物質としては、種々の物質が使用可能である。本発明において好適な「親水性」は、以下の方法により確認することができる。この親水性物質は、更に「生体内分解性」を有していることが好ましい。この「生体内分解性」は、以下の方法により確認することができる。



### <好適な親水性の確認方法>

室温（25℃）下で材料表面に脱イオンした蒸留水を滴下し、静止状態で液体の自由表面が材料表面に接する部位での液面と固体面とのなす角、いわゆる接触角を測定する。本発明においては、この接触角が90°以下の場合に「親水性」と判断する。親水性材料の接触角は、80°以下、更には60°以下であることが好ましい。

他方、接触角が90°を超える場合に、本発明においては「疎水性」と判断する。疎水性材料の接触角は、100°以上、更には120°以上であることが好ましい（このような接触角測定方法の詳細については、例えば、文献van Oss CJ, Zingg W, Hum OS, Neumann AW; Platelet Activation of Agar/Agarose Gel surfaces; Variation Correlated with Casting Technique and Hydrophobic/Hydrophilic Balance as Reflected in Contact Angle Measurements, Thromb. Res, 1977, Aug. 11 (2) : 183~191を参照することができる）。例えば、水とガラスの接触角は、8ないし9度である。

### <好適な生体内分解性の確認方法>

生体内分解性を測定すべき材料の小片（5×10mm、厚さ0.6mm程度）を清潔下でラットの皮下組織内（深さ5mm）に挿入し、その材料が生体内で分解および／又は吸収されるまでの期間を観察する（肉眼で判別できない程度にまで分解された場合に、「分解・吸収された」と判断する）。本発明においては、この分解・吸収されるまでの期間が12ヶ月以内である場合に、「生体内分解性あり」と判断する（このような生体内分解性の測定方法の詳細については、例えば、文献、佐藤温重、桜井靖之編「医歯科用バイオマテリアル安全性評価」、第89～92頁、サイエンスフォーラム、東京、1987を参照することができる）。早期に吸収される材料

では2週間以内にラットの皮下組織内に吸収され、遅い物では6ヶ月必要な場合もある。

本発明において使用されるべき親水性物質は、上記試験方法において、生体内で24時間以上、12ヶ月以内（より好ましくは6ヶ月以内、更には3ヶ月以内）の間に分解・吸収されることが好ましい。

#### （負荷電性）

本発明においては、上記した親水性物質の少なくとも一部が、負荷電部分を有することが好ましい。ここに「負荷電部分」とは、水中（ $\text{pH} = 7$ ， $25^{\circ}\text{C}$ ）でマイナスに解離可能な官能基を有する部分を言う。このような官能基を例示すれば、カルボキシル基、スルホン酸基、スルフィン酸基等が挙げられる。

一般的に、荷電を有する親水性材料が多孔質構造内に存在する場合には、電荷同士の反発に基づいて多孔質構造を構成する自体が空間的に広がるため、その個々の網目内に水を取り込み易くなる（すなわち、親水性材料が適度に膨潤して、網目を目詰まりさせ易くなる）傾向がある。しかしながら、親水性材料に正荷電性の部分がある程度以上に存在する場合には、血小板（負荷電）が付着し易くなって、血栓性が高まる傾向が生じやすい。したがって、本発明においては、親水性材料の少なくとも一部が、負荷電部分を有することが好ましい。

#### （親水性物質の具体例）

前記親水性物質は、その少なくとも一部が、天然由来材料又はその誘導体、合成高分子由来材料又はその誘導体、および／又は人為的に生物を利用して作製された（元来、天然には存在しない材料）又はその誘導体であることができる。

このような親水性物質の例としては、例えば、ポリグリコール酸

、ポリ乳酸、ポリ乳酸－ポリグリコール酸共重合体、生分解性（３－ヒドロキシルブチレート－４－ヒドロキシルブチレート）ポリエステル重合体、ポリエチレングリコール、ポリジオキサン、コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、フィブリン、キトサン、キチン、フィブロイン、セルロース、ムコ多糖類、フィブロネクチン、ラミニン、アルギン酸、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ポリアミノ酸、澱粉、デキストリン、デキストラン、アガロース、ペクチン、マンナン、およびそれらの誘導体、からなる群の中から選ばれた少なくとも一つ以上を構成要素として有する材料が好ましい。このような構成要素は、既に医用材料等での使用実績があることから使用しやすい。しかしながら、これら以外の材料であっても、生体内での毒性が実質的にない限り使用しうる。

（ハイブリッド樹脂材料の製造方法）

本発明において、疎水性樹脂からなる多孔質構造と、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された溶解性物質ないし親水性物質とのハイブリッド樹脂材料を作製するための製造方法は特に制限されない。このようなプロセスの例としては、例えば、以下のものが挙げられる。

（充填方法）

本発明において、溶解性物質を疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填させる好適な一態様について述べる。

この態様においては、溶解性物質をアルコール等の含水極性溶媒に溶解して、延伸ポリテトラフルオロエチレン製の多孔質な管またはシートにおいて、その片面または両面から 5 m m H g 以上、3 0 0 m m H g 以下の範囲内で陽圧、陰圧等の圧力差をもうけてフィブリル間隙に圧注入させる方法である。

圧力差は含水極性溶媒に溶解された溶解性物質の種類と濃度、操

作中の温度等にも影響を受けるが、疎水性樹脂からなる多孔性構造の壁を傷害させないためには、30～100Hgの範囲内が望ましい。

アルコール等の含水極性溶媒を使用しないと疎水性である疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に注入することは、溶解性物質が親水性である場合には困難を伴う。その問題を解決するためにはK. Weadock, DJ Lentz, RJ Zdrahala らによる米国特許第5, 665, 114号および米国特許第5, 716, 660号の技術では疎水性樹脂からなる多孔性構造の疎水性を押さえるため、あらかじめその表面をプラズマ処理やグロー放電処理等を行って親水化させているが、本発明では溶解性物質が親水性であっても、そのような前処理を必須とせず、疎水性樹脂からなる多孔性構造に対して溶解性物質を充填可能である。本発明によれば、通常のスル水性樹脂からなる多孔性構造に対して、容易にこの充填が可能となる。

あらかじめその表面をプラズマ処理やグロー放電処理等を行って疎水性樹脂からなる多孔性構造を親水化させることを行わずに親水性物質を充填する方法としては、K. Okitaによる米国特許第4, 193, 138号の技術がある。K. Okitaは始めに疎水性樹脂からなる多孔性構造人工血管をメタノール、エタノール、アセトン、または界面活性剤の中に浸すという前処置を施し、次に疎水性樹脂からなる多孔性構造人工血管を水の中に浸して疎水性樹脂からなる多孔性構造人工血管のフィブリル間隙に浸入したメタノール、エタノール、アセトン、または界面活性剤を水と置換させ、その次に親水性の生体内分解性材料の液の中にその疎水性樹脂からなる多孔性構造人工血管を浸すという3段階方式を推奨している。この方法によって徐々に親水性物質が疎水性樹脂からなる多孔性構造人工血管のフィブリル間隙に滲入すると記載されている。

これに対して、本発明では、上記したように、材料を含水極性溶媒に単純に溶解させて疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填させる 1 段階方式で目的を達することができる。

例えば、ゼラチン等の親水性材料の場合には 30～70% のエタノールに材料を溶解すると、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙にそのまま充填させることができる。また、レシチン等の疎水的なリン脂質であっても、同様に 30～70% のエタノールに溶解して疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填させることができる。そして充填後は単純に自然乾燥あるいは凍結乾燥によってエタノール等の含水極性溶媒を取り除くことが可能であって、この処置によって溶解性物質のみを疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に残すことができる。

#### (充填用の溶媒)

使用する含水極性溶媒の種類は、疎水性樹脂からなる多孔質構造へ溶解性物質を充填可能なように溶解または分散可能である限り、含水極性溶媒は特に制限されない。より具体的には、例えば、アルコール、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ジメチルスルフォキシド、N-メチルピロリドン、ヘキサメチルスルファミド、水、等の種々の含水極性溶媒が使用可能である。取り扱い上、除去し易さ等の点からは、エタノールやメタノール等のアルコール類（更に、残存した場合の生体への毒性の点からは、エタノール）が好適に使用可能である。更に、種々の溶媒と水との混合溶液が、注入後に使用した含水極性溶媒を蒸発等により容易に除去可能な点から好ましい。

この際の混合比は、溶解性物質の種類と濃度にもよるが、例えばゼラチンの場合には 50% エタノール液が使用し易い。更にゼラチン分子にカルボキシル基を付着させたサクシニール化ゼラチンや、更

にミリスチル酸を付着させたアシル化ゼラチン等では70%エタノールが好適に使用可能である。このように溶解性物質の種類とその濃度によって含水極性溶媒の種類と混合比は適宜選択することが可能である。

#### （徐放性の放出）

上述したように本発明によれば、材料の溶解性を維持したまま疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙からの材料の溶出を徐放性にすることが可能となる。この方法は疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙からの放出を利用して、好適に達成される。

より具体的には、本発明においては、例えば、溶解性物質を含水極性溶媒に溶解して疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填させる。この状態でそのまま不溶化処理を行わずに生体内に埋入させた場合、たとえpH7.4の条件下で容易に溶解されうる溶解性物質であっても、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填されると、（多孔性構造の「場」の効果に基づき）溶解性物質自体の不溶化処理を行わない場合でも、その溶解速度を極めて緩徐にできる。

本発明においてこのような生体内の緩慢な放出が可能となる機序は、本発明者の推定によれば、以下の通りである。

すなわち、疎水性樹脂からなる多孔性構造は疎水的であり、多孔性構造の孔ないし間隙（例えば、フィブリル間隙等）は狭いため、溶解性物質は含水極性溶媒に溶解されて孔ないし間隙に充填させられたにしても、生体内の体液は容易には疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙には入り得ない。体液がたとえ入り得ても極めて少量であって、溶解性物質の溶解部分での濃度は著しく高い状態となっているので、急速には低濃度にはなり得ず、溶解は進みにくい状況が生じている。従って、体外の他の組織内、例えば筋肉内や

皮下組織内に埋入された場合には容易に溶解され、生体内で分散されて、短期間のうちに消失する様な溶解性物質であっても、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填された場合には、極めて徐々にしか溶解、分散されず、結果的には長い間、孔ないし間隙に止まっていることが可能となる。この疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙という特殊性を活用することによって、溶解性物質であっても、不溶化処理を行わずして無理なく疎水性樹脂からなる多孔性構造からの徐放状態を得ることが可能となる。

本発明では、例えば、このように生体内で溶解されうる物質を含む水極性溶媒に溶解させるが、この溶解性物質がサクシニール化ゼラチンのように親水性の強い場合には、その物質は水によって溶かされ易い。しかしながら疎水性樹脂からなる多孔性構造材料の狭い孔ないし間隙には水は侵入しにくいため、親水性の強い物質であっても、その溶解は遅延する。一方、レシチン等の疎水的な性質を有する溶解性物質では、やはり含水極性溶媒に溶解して疎水性樹脂からなる多孔性構造材料の狭い孔ないし間隙に充填可能であるが、その溶解性物質は水及び油脂に溶解されうる。しかしながら生体内での体液における油脂は量的に少量であって、その溶解性は一般には遅いのが特徴であり、疎水結合によって分子の巨大な集合体を形成し易い。したがって、このような状態となれば、疎水性樹脂からなる多孔性構造材料の狭い孔ないし間隙での溶解性は更に遅延するため、親水性の物質と同様に徐放出状態が得られる。

（両親性物質）

物質によっては親水性と疎水性の両方を有する場合（両親性）もあり得る。例えば、サクシニール化ゼラチンおよびアシル化ゼラチンは、両親性である。このような両親性物質の場合にも、エタノール等の含水極性溶媒で容易に溶解状態や分散状態を得ることが可能

であることから、同様に含水極性溶媒に溶解して疎水性樹脂からなる多孔性構造材料の狭い孔ないし間隙に充填可能であり、親水性物質や疎水的物質と同様に徐放出状態が得られる。

このような両親性の材料を組み合わせる方法としては、溶解性物質が、親水性部分としてヒドロキシ基、カルボキシ基、アミノ基、カルボニル基、スルフォ基、等の親水性基を少なくとも1種類以上有するとともに、疎水性部分としてアシル基、アルキル基、フェニール基等の疎水性基を少なくとも1種類以上を同時に有する材料を使用することがもっとも効率がよい。更に、このような性質を有する異なる材料を複数個組み合わせて、混在させることにより、きめ細かな徐放出を制御することが可能となり、したがって細胞の侵入し易い場、該浸入が困難な場等に合わせて、生体内に植え込まれる疎水性樹脂からなる多孔性構造製材料内への細胞の侵入を適切に誘導することが可能となる。

(溶液状態等)

溶解性物質は含水極性溶媒に溶解させるに際しては、溶液状態、懸濁液状態、分散状態のいずれであっても構わない。このような状態で疎水性樹脂からなる多孔性構造材料の狭い孔ないし間隙に充填可能であれば、溶液状態、分散状態、懸濁液状態のいずれの状態であっても、本発明に適応可能である。

本発明によれば、溶解性物質は不溶処理を行わずとも疎水性樹脂からなる多孔性構造材料の狭い孔ないし間隙から急速に溶解され溶出されることを防止することが可能となる。その様になると、溶解性物質は生体内での溶解性が保たれている限りにおいては、上述したように、ある程度の制限された架橋処理を行うことも許される。グルタルアルデヒドやフォルムアルデヒドによる化学的架橋剤を用いた架橋は一般的には強くて完全な架橋状況を得易い。しかしな



がら紫外線やガンマー線、熱等の物理的エネルギーによる架橋は、架橋の程度をコントロールし易く、低い架橋度の状態を得ることができる。従って、化学的架橋剤を用いる架橋の場合は過剰な架橋にならないような注意することが好ましい。

このような低い架橋度の状態を得ることはフォルムアルデヒド等の化学架橋剤を用いても、その反応時間、温度、pH、濃度、触媒等の反応条件を変えることで慎重に行えば制御可能である。したがって、架橋は必ずしも物理的エネルギーに基づく必要はないが、物理的方法は化学的架橋剤に比べると、その制御は容易である。このような低い架橋度の処置によって、物質の抗原性を抑制しつつ溶解性を実質的に維持することが可能である。

本発明において、必要に応じて溶解性物質を架橋処理する場合、溶解性物質の生体内での溶解性が実質的に保持である限り、溶解性物質を疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙に充填させる前に架橋処理しても、多孔性構造への充填後に架橋処理してもよい（架橋処理の時期は、特に制限されない）。

（e-P T F E への充填）

本発明では、例えば、pH 7.4 付近で溶解性を有する物質及び／又は哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質をアルコール、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ジメチルスルフォキシド、N-メチルピロリドン、ヘキサメチルスルファミド、水、等の含水極性溶媒を用いて溶液又は懸濁液又は分散液等を作り、それを結節部分と個々の結節間を結ぶ細いフィブリル部分とが繰り返して交互に存在する構造を有する延伸ポリテトラフルオロエチレン（e-P T F E）製の多孔質の管またはシートにおいて、その片面または両面から 5 mm Hg 以上、300 mm Hg 以下の範囲内で陽圧、陰圧等

の圧力差をもうけて孔ないし間隙に圧注入することができる。

この際の溶解性を有する物質及び／又は哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質は、溶液、懸濁液、分散液のいずれであっても構わない。pH 7.4 付近で溶解性を有する物質及び／又は哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質が溶解されたり、分解される限りにおいて、疎水性樹脂からなる多孔性構造の孔ないし間隙への充填時における液の状態は実質的に問題にならない。

(溶解性物質の濃度等)

pH 7.4 付近で溶解性を有する物質及び／又は哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質の含水極性溶媒における濃度は、ここの物質の性質によって適宜調整することが可能である。

例えば、サクシニール化のアテロコラーゲンは2%の溶液であっても粘度が高く、その取り扱いには困難性がある。しかしながら、そのサクシニール化のアテロコラーゲンを加熱によってゼラチン化すると、その溶液の濃度を30%程度まで上げることが可能である。このように、溶解性物質の種類によってその至適濃度が変化する可能性があるが、それぞれに取り扱いに容易な濃度の溶液、懸濁液、分散液等を作って本発明の材料を作成することができる。

しかしながら、同一種類の溶解性物質溶液の場合には、疎水性樹脂からなる多孔性構造の壁内へ充填する際には、低濃度の溶液、懸濁液、分散液を用いて始め、少なくとも2段階以上に濃度差のある高濃度溶液を段階的に圧注入して行くことが、疎水性樹脂からなる多孔性構造の個々の孔ないし間隙にくまなく均質に、且つ効率的に溶解性物質を充填する点から好ましい。

このようにして疎水性樹脂からなる多孔性構造製人工臓器の壁内へpH 7.4付近で溶解性を有する物質及び／又は哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質を充填させたときに、充填に先立ってpH 7.4付近で溶解性を有する物質及び／又は哺乳類生体内の生理的条件下で溶解、分解、分散、吸収等の作用によって処理される特性を有する物質を架橋しておく場合と、疎水性樹脂からなる多孔性構造の壁内に充填した後に架橋処理を行うことも可能である。この際には、上述したように、生体内での溶解性や分解性が実質的に維持される程度の架橋処理に留めることが好ましい。

(好適な製造方法の例)

上記した本発明のハイブリッド樹脂材料(親水性物質を含む態様)を製造すべき好適な方法(本発明の製造方法)は、以下のステップを含むことが好ましい。この態様においては、親水性物質のハイドロゲルを用いることが好ましい。ハイドロゲルの使用は、含水性作用の発揮に基づく多孔質構造の目詰まり効果が高いという点から好ましい。

(1) 親水性物質のハイドロゲルを、界面活性剤と共に混濁状態にして、ハイドロゲル微細粒子のミセル懸濁液状態の液を作製する。

(2) この後、必要に応じて、有機溶媒を加えてミセルを分散させる。

(3) この状態のハイドロゲルミセルを、疎水性樹脂によって形作られた狭い空間に、多孔質構造の片面又は両面から陽圧又は陰圧の圧力差(好ましくは5 mmHg以上、300 mmHg以下の範囲内)を与えることにより圧注入させる。

(4) その後に、100%エタノール等の界面活性剤を溶解させ

る液体を用いて界面活性剤を除去し、結果として親水性物質を疎水性樹脂によって形作られた狭い空間に残す。

この際、ハイドロゲルの微細粒子の懸濁液状態を作製し、それを有機溶媒で希釈すると疎水性樹脂への注入がより容易になるが、それなりに濃度は低くなることから、実際に配置される親水性物質の量も少なくなる。したがって、作業の容易さと、配する物質の量とのバランスを考慮して希釈率を調節したり、あるいは希釈せずに使用することも可能である。

親水性の物質を疎水性の物質からなる狭い間隙や孔の中に押し込むことは、その孔や間隙が狭ければ狭いほど困難であり、特にその疎水性物質の粘度が高ければ、押し込むことが、実質的に不可能であることが多い。小さな領域において、表面張力の作用が相対的に大きくなるためである。

上記した製造方法の態様においては、粘度の高い親水性のハイドロゲルを入れることを可能としている。それは、親水性物質のハイドロゲルと両親性を有する界面活性剤とを混ぜて強く攪拌することで、親水性のゲルが微細なミセルを作ることに基づく。

ミセルは、油脂を洗い流すときに使用する石けんによって形成されることで、一般に周知である。このような一般的なミセルは、親水性の物質（例えば水）で油脂を取り除くときに、水の中に油脂を微細な粒子状態にして浮かすことが通常は必要となる。この場合は、一種の界面活性剤である石けんを使用する。この際、石けんの分子のうち、疎水性を有する部分が油脂の粒子に接するようになって、油脂粒子を取り囲む。一方、親水性を有する部分は、周囲の水の方向に向かって配列する。すなわち、油脂の粒子は、石けんの膜からなる球の中に取り込まれる形で覆われるが、その膜の内面は疎水性であって、油脂に面しており、膜の外面は親水性であって、周

囲を取り囲む水と接することとなる。これが一般的なミセルの形態である。

上記した本発明の態様においては、油脂の代わりに親水性のハイドロゲルが使用される。そこで界面活性剤を混ぜて強く攪拌すると、ハイドロゲルが分散し始めるが、個々のハイドロゲル粒子はその表面が親水性であることから、その周囲に界面活性剤が付着する場合に、必ず界面活性剤分子の中の親水性部分をハイドロゲルに接するように配する。したがって、その外側は疎水性となる。この状態で有機溶媒を入れると、有機溶媒の液体の中で、ハイドロゲル粒子は界面活性剤の膜の中に取り囲まれた状態で分散する。

しかしながら、この場合は石けんの例で示した一般的なミセルの状態とは逆で、外側に疎水性部分を、内側に親水性部分を向けたミセルとなっている。すなわち、石けんの場合には一般的なミセルの状態であって、いわゆる  $w/o$  (Water in oil) の状態である。それに対して上記した本発明の態様の場合には、その逆で  $o/w$  (Oil in water) の状態である。すなわち、逆ミセルの状態となっている。

この逆ミセルの状態を作り、疎水性の表面を有する粒子を多数作製して、疎水性の樹脂の孔や間隙に親水性物質を入れ込むことが、上記した本発明の態様の特徴である。

これに対して、従来技術においては、疎水性の樹脂で作られた  $e-P T F E$  等の多孔質構造体を最初に両親性を有するた溶液状態のもの、例えば、エタノールやある種の界面活性剤に接触させておき、樹脂の表面を親水性化させてから、親水性の物質を押し込む、という考え方である。そのため、親水性の物質を無理矢理に押し込むにつれて、疎水性の表面に付着した両親性物質や界面活性剤は容易に剥がれてしまい、それ以上、親水性の物質は、孔の中深くには入

り込むことができない。

これに対して、本発明においては、微細な親水性物質がマイクロなレベルで逆ミセル現象によって疎水性状態の表面を有するため、樹脂表面の性状に無関係に、その孔の内部深くまで入り込むことができる。これが本発明のミセルを使用する態様の長所である。

逆ミセルは英語でreversed micelle、またはinverted micelleといい、この考え方の従来技術としては1980年代から考えられている。米国特許第4,411,815号、米国特許第4,923,854等にもすでにこの考え方がみられる。医薬関係では米国特許第4,548,922号、米国特許第5,444,041号、米国特許第5,633,226号、米国特許第5,646,109号、米国特許第5,688,761号、米国特許第5,981,240等にその技術が利用されている。これらの多くは薬剤関係であり、最近では化粧品関係でもこの考え方の技術が報告されている。

したがって、逆ミセル自体は新しい考え方ではないが、疎水性の樹脂からなる多孔質構造の孔または間隙に親水性物質を無理なく配置するための手段として用いた例は、本発明が最初である。

前述したとおり、界面活性剤を使用する考え方は、疎水性樹脂を処理する、という技術として考えられていたが、疎水性樹脂に挿入する親水性物質を逆ミセルの考え方で処理する技術は、本発明が最初である。

親水性物質を配した後の処理は特に制限されない。すなわち、親水性物質を配した後の疎水性樹脂を凍結乾燥しても良いし、自然乾燥、いわゆる風乾を行っても良い。一般的には、凍結乾燥の方が柔軟で多孔質となり、風乾の方が硬くて無孔質の状態の親水性物質が得られる傾向がある。これらは、その後に使用されるべきハイブリッド材料の用途（例えば、医療材料）の求められる物性によって調

整することが可能である。

(不溶化)

本発明の親水性物質は、疎水性樹脂の孔又は間隙に配された後に、必要に応じて、何らかの方法で不溶化してもよい。このような手段で、生体内での吸収速度を調節することが可能となる。具体的な手法の例としては、親水性物質を架橋処理することが挙げられる。その方法は、前記親水性材料を熱、電子線、ガンマー線、紫外線、圧力、乾燥、絡まり、等の物理的エネルギーによる架橋；ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、ポリエポキシ化合物、ジアルデヒドデンプン、ヘキサメチレンジイソシアナート、等の化学架橋剤による架橋、のいずれかの方法で不溶化が可能である。

更に不溶化の方法としては、前記親水性物質を、亜鉛、マグネシウム、鉄、アルミニウム等の金属イオンにより配位結合状態とさせることが可能である。このような配位結合を利用する際は、親水性材料がカルボキシ基を有していることが好ましい。

前記親水性物質を不溶化することで、親水性物質が生体内で分解吸収される物質である場合には、生体内での親水性物質の分解、吸収をコントロールすることができる。例えば強く架橋して不溶化すると、その物質は生体内で12ヶ月以上も分解吸収を受けないようにすることもできるし、弱く架橋したり配位結合の程度を低くすると、生体内で1ヶ月程度でも分解吸収されるようにすることも可能である。このように、不溶化処置の程度で、分解吸収の程度を自由にコントロール可能となる。

更に生体内で吸収を早めるには、吸収可能な状態のまま（すなわち、架橋を行わずに、または弱い架橋を行って）親水性物質を多孔性構造（e-P T F E等）の壁内に留めておくこともできる。このようにした場合でも、多孔性構造の壁内部には水が入り難いので、

親水性物質が水に溶け出る可能性が低くなるため、多孔性構造の外にある親水性物質に比べて生体内では長時間残存させることができる。

（親水性物質の修飾）

更に本発明においては、必要に応じて、親水性物質に種々のサイトカインや細胞成長因子等、生物活性を有する薬剤や因子を吸着させることができる。このような態様によれば人為的に疎水性樹脂の多孔質部分に意図的に選別した細胞を集めることが可能となる。

本発明においては、親水性物質の少なくとも一部が、細胞性因子、サイトカイン、抗生物質、抗凝固性物質、凝固促進物質、細胞成長抑制物質、薬理学的作用を有する薬剤からなる群から選ばれた一つ以上の生理活性物質を、吸収又は吸着により保持可能な物質であることが好ましい。

より具体的には、親水性物質が、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ乳酸－ポリグリコール酸共重合体、生分解性（3－ヒドロキシルブチレート－4－ヒドロキシルブチレート）ポリエステル重合体、ポリジオキサン、ポリエチレングリコール、コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、フィブリン、キトサン、キチン、フィブロイン、セルロース、ムコ多糖類、ビトロネクチン、フィブロネクチン、ラミニン、アルギン酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、ポリアミノ酸、澱粉、デキストリン、デキストラン、アガロース、ペクチン、マンナン、およびそれらの誘導体からなる群から選ばれた一つ以上の物質を含むことが好ましい。

（好適な充填の一態様）

図1は、本発明において好適に使用可能な、溶解性物質ないし親水性物質の充填の一態様を示す模式斜視図である。

図1を参照して、e－PTFE等のフィブリル疎水性樹脂からな



る人工血管 1（例えば、外径 8 mm、長さ 10 cm、壁の厚さ 0.6 mm 程度）の一端を三方活栓 3（例えば、トップ社製）の第 1 の端子 3 a に接続する（例えば、1 号絹糸を用いてくくりつける）。次いで、人工血管 1 を細長い透明な塩化ビニール袋 2 に入れ、その袋 2 の一方の末端を、上記人工血管 1 と共に三方活栓 3 の第 1 の端子 3 a に接続する。その袋 2 の他方の末端にはコネクティブチューブ 4（例えば、トップ社製）を接続し、該コネクティブチューブ 4 の他方の末端を、前記三方活栓 3 の第 2 の端子 3 b に接続する。

別に、生体内溶解性材料（例えば、ゼラチン）、または親水性物質（例えば、ヒアルロン酸）をアルコール等の含水極性溶媒（例えば、50%エタノール水溶液）に懸濁させてなる液体 6 を注射器 5 に入れておき、三方活栓 3 の第 3 の端子 3 c に接続する。また、止血鉗子 7 を用いて、人工血管 1 の三方活栓 3 に接続されていない方末端を、塩化ビニール袋 2 の上から挟みつけることにより、人工血管 1 の末端を閉じる。

このような装置を作り、三方活栓 3 の端子 3 c - 3 a 間を導通させるように切り替えた後に、注射器 5 から親水性物質 6 を含水アルコール等の溶媒に懸濁させた液を人工血管 1 の中に注入する。このとき、人工血管 1 の壁を通過した溶解性／親水性物質の溶解／分散液 6 は、塩化ビニール袋 2 の中にたまる。このように溜まった液は、三方活栓 3 の端子 3 b - 3 a 間を導通させるように切り替えた後に、注射器 5 を用いてコネクティブチューブ 4 を介して吸引し、注射器 5 内に戻す。

次いで、三方活栓 3 の端子 3 c - 3 a 間を導通させるように切り替えた後に、再び、このように注射器 5 内に戻した液を、人工血管 1 内に注入する。

このような操作を 10 分間ほど、繰り返し行うことで、徐々に溶

溶解性／親水性物質は人工血管 1 の壁内に吸着されて蓄積する。溶解性／親水性物質の濃度が高い場合には、数回の注入で人工血管 1 の壁の孔が塞がれて注入が継続できなくなる。この場合にはこの時点で注入を止める。

次に、止血鉗子 7 を人工血管 1 から外した状態で上述した注射器 5 から人工血管 1 への溶解／分散液 6 の注入操作を続け、これによって人工血管 1 の内腔に付着している過剰な溶解性／親水性物質を洗い流す。この操作が完全に終了した後に、人工血管 1 をビニール袋 2 から取り出す。この操作によって、コンタミネーションを起こさせることなく清潔な状態で人工血管 1 の壁に溶解性／親水性物質を絡めることが可能となる。

図 2 は、上記したような充填操作で用いた（溶解性／親水性物質を充填する前）人工血管の一態様を示す模式断面図（図 2 A）および拡大模式断面図（図 2 B）である。図 2 A は、人工血管壁 8 の長軸方向の割断面 9 を示す。図 2 B は、この割断面 9 の拡大図 10 を示す。図 2 B を参照して、この態様においては、人工血管 1 の結節部分 11 とフィブリル部分 12 とが交互に存在している。

図 3 は、上記したような充填操作により得ることが可能な、溶解性／親水性物質が充填された人工血管の一態様を示す模式断面図（図 3 A）および拡大模式断面図（図 3 B）である。図 3 A は、溶解性／親水性物質 6 が絡められた人工血管壁 8 の長軸方向の割断面 13 を示し、図 2 B は、この割断面 13 の拡大図 14 を示す。図 2 B を参照して、人工血管 1 には結節部分 11 とフィブリル部分 12 が交互に存在するが、そのフィブリル部分 12 に溶解性／親水性物質 6 が絡まっている。

以下、実施例により本発明を更に具体的に説明する。

#### 実施例 A-1

(溶解性物質を含むハイブリッド材料)

牛の皮膚から採取した繊維状コラーゲンをペプシン等の酵素処理によって分子レベルにまで分解し、更にコラーゲン分子の一部であるテロペプチド部分を取り除いて抗原性を大幅に低下させる処置を行ったアテロコラーゲン（（株）高研から購入）を用いた。

次いで、無水ミリスチレン酸を用いて、このアテロコラーゲンの1分子当たりのアミノ基の約10%に相当する7～8個のアミノ基に対して炭素数14のミリスチレン酸を付着させることでアシル化アテロコラーゲンを得た。

更に、このアシル化アテロコラーゲンを蒸留水に5%の質量比（アシル化アテロコラーゲンの質量／蒸留水の質量）で入れ、24時間かけてコラーゲン分子を膨潤させた。次にこれを静かに摂氏40度に加熱し、コラーゲン分子の3本の鎖を徐々に解くことによって、コラーゲン分子を切断することなく分解して親ゼラチンを作成した。

アシル化アテロコラーゲンから作成した上記の親ゼラチンの溶液に、同量の100%エタノールを注ぎ、良く攪拌して2.5%のゼラチンの含水極性溶媒（50%エタノール）液を得た。

次に、上記で作成した2.5%のゼラチンの含水極性溶媒溶液を4℃に冷却して、ゼラチンを凝固させた。次にこのゼラチン1グラムを採取し、100mlのpH7.4の蒸留水に投入し、室温（約25℃）に放置したところ、4時間でゼラチンは溶解したことから、このゼラチンは溶解性であることが判明した。

フィブリル長30ミクロンから60ミクロン、平均して約45ミクロンのe-P T F Eの人工血管（内径6mm、外径7.5mm、長さ約10cm）の方末端を止血錐子を用いて閉じ、他の末端から上記で作成した2.5%のゼラチンの含水極性溶媒溶液（合計で約

40 ml) を徐々に繰り返し (約 20 回) 注入し、ゼラチンを e-P T F E のフィブリル間隙に充填した。e-P T F E に対するゼラチンの充填量を島津製作所 T G 5 0 熱重量分析計により測定したところ、1.2% (質量/質量) であった。

このようにして 2.5% のゼラチン含水極性溶媒溶液を用いて、ゼラチンを e-P T F E のフィブリル間隙に充填した e-P T F E 人工血管 (本発明のハイブリッド化材料) を得た。

次に、この人工血管の長さ 1 cm を鋭利なメスで切り取り、4℃ に冷却した後に 100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、この状態で 24 時間室温でスターラー攪拌した。次いで、パラフィン包埋法を用いてこの放置後の e-P T F E 人工血管の切片 (厚さ約 10  $\mu$  m) を作成し、光学顕微鏡 (倍率約 200 倍) により観察したところ、蒸留水中で 24 時間経過後であっても、e-P T F E のフィブリル間隙にゼラチンが残存していることが判明した (ゼラチンの残存は、光学顕微鏡の視野においてエオジン染色法により赤く染め出されることにより確認できた)。このことから、溶解性であるゼラチンが e-P T F E のフィブリル間隙に充填されると、その溶出が極めて遅れることが明らかとなった。このようなゼラチンの徐放出は、e-P T F E 人工血管への細胞親和性の導入に極めて効果的である。

#### 実施例 A-2

(自然乾燥ゼラチンの溶解性物質としての使用)

2.5%ゼラチンの含水極性溶媒溶液 1 グラムをテフロンの板の上に流し、そのまま室温で室内に 2 日間放置してゼラチンを自然乾燥させ、ゼラチンの膜を得た。次にこのゼラチン膜を 1 平方センチメートル切り取って、100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、スターラー (100 回/分) で攪拌しつつ室温で放置した。この結

果、投入後 1 2 時間では溶解していなかったが、2 4 時間経過後には完全に溶解していた。このことから、溶解性であるゼラチンが自然乾燥すれば溶解速度が低下するが、それでも溶解性を維持していることが明らかとなった。

実施例 A-1 で得た 2. 5 % のゼラチン含水極性溶媒溶液によりゼラチンが充填された e-P T F E 人工血管の長さ 1 c m を切り取り、4 °C に冷却した後に室温で室内に 2 日間放置してゼラチンを自然乾燥させた。次に、この e-P T F E 人工血管を 1 0 0 m l の p H 7. 4 の蒸留水に投入し、スターラー（1 0 0 回／分）で攪拌しつつ室温に 1 週間放置した。次いで、パラフィン包埋法を用いてこの放置後の e-P T F E 人工血管の切片（厚さ約 1 0 μ m）を作成し、光学顕微鏡（倍率約 2 0 0 倍）により観察したところ、蒸留水に 1 週間放置後であっても、e-P T F E のフィブリル間隙にゼラチンが残存していることが判明した（ゼラチンの残存は、光学顕微鏡の視野においてエオジン染色法で赤く染め出されることにより確認できた）。このことから、溶解性であるゼラチンが e-P T F E のフィブリル間隙に充填させられ、自然乾燥をうけると、溶解性であるにも関わらず、その溶出が極めて遅れることが明らかとなった。

### 実施例 A-3

（凍結乾燥ゼラチンの溶解性物質としての使用）

2. 5 % のゼラチン 1 グラムをテフロン（井内製作所社製）の板の上に流してそのまま 4 °C に冷却し、その状態で凍結乾燥を行ない、ゼラチンの膜状のスポンジ（大きさ 1 0 0 m m × 1 0 0 m m、厚さ約 5 0 m m）を得た。次にこのスポンジ膜を鋭利なメスにより 1 立方センチメートル（厚さ 1 c m）で切り取って、1 0 0 m l の p H 7. 4 の蒸留水に投入し、スターラー（1 0 0 回転／分）により

攪拌しつつ室温に放置したところ、2時間では溶解していなかったが、6時間経過後には完全に溶解していた。このことから、溶解性であるゼラチンが凍結乾燥すれば溶解速度が低下するが、それでも溶解性を維持していることが明らかとなった。

2. 5%のゼラチン含水極性溶媒溶液によりゼラチンが充填されたe-P T F E人工血管の長さ1 c mを鋭利なメスにより切り取り、4℃に冷却した後に凍結乾燥を行った。次にこの人工血管を1 0 0 m lのp H 7. 4の蒸留水に投入し、スターラー（1 0 0回転／分）により攪拌しつつ室温に放置したところ、3日間経過後であっても、e-P T F Eのフィブリル間隙にゼラチンが残存しており、1週間後には完全に消失していたことが、切片を作成し、光学顕微鏡による観察の結果判明した。このことから、溶解性であるゼラチンがe-P T F Eのフィブリル間隙に充填させられ、凍結乾燥をうけると、溶解性であるにも関わらず、その溶出が極めて遅れることが明らかとなった。

#### 実施例 A-4

実施例 A-1 と同様の方法で、牛の皮膚から採取した繊維状コラーゲンをペプシン等の酵素処理によって分子レベルにまで分解し、更にコラーゲン分子の一部であるテロペプチド部分を取り除いて抗原性を大幅に低下させる処置を行ってアテロコラーゲンを得た。

次に、文献（CL Wang et al., Biochem.Biophys.Acta., 1978, 544, p555~567）記載の方法にしたがって、このアテロコラーゲンの1分子当たりのアミノ基の約90%に相当する70個のアミノ基に対して無水コハク酸を付着させることでカルボキシル基を付着させ、サクシニール化アテロコラーゲンを得た。

更に、上記これを蒸留水に5%の質量比で入れ、コラーゲン分子を膨潤させた。次にサクシニール化アテロコラーゲンを静かに（攪

拌無しで) 摂氏 40 度に加熱し、コラーゲン分子の 3 本の鎖を徐々に解くことによって、コラーゲン分子を切断することなく分解して親ゼラチンを作成した。

このようにして作成したサクシニール化親ゼラチンを用いた以外は、実施例 A-1~3 と同様の方法で、e-P T F E 人工血管へのゼラチン充填、自然乾燥、凍結乾燥の実験を行ったところ、実施例 A-1~3 と同様の結果が得られた。この結果、溶解性のあるサクシニール化親ゼラチンも e-P T F E のフィブリル間隙に充填させられると、その溶解速度が低下することが明らかとなった。

#### 実施例 A-5

実施例 A-1 と同様の方法で、牛の皮膚から採取した繊維状コラーゲンをペプシン等の酵素処理によって分子レベルにまで分解し、更にコラーゲン分子の一部であるテロペプチド部分を取り除いて抗原性を大幅に低下させる処置を行ってアテロコラーゲンを得た。

次にこれを蒸留水に 5 % の質量比で入れ、コラーゲン分子を膨潤させた。次にこれを静かに 40 °C に加熱し、コラーゲン分子の 3 本の鎖を徐々に解くことによって、コラーゲン分子を切断することなく分解して親ゼラチンを作成した。

このようにして作成した単純な親ゼラチンを用いた以外は、実施例 A-1~3 と同様の方法で、e-P T F E 人工血管へのゼラチン充填、自然乾燥、凍結乾燥の実験を行ったところ、実施例 A-1~3 と同様の結果が得られた。この際、ゼラチン分子に対しては、以下のように紫外線による部分的な架橋を行った。

すなわち、上記実験で作成した 2.5 % のゼラチンの含水極性溶媒溶液を 4 °C に冷却することによってゼラチンを凝固させた。次にこのゼラチン 1 グラムを採取し、10 分間の紫外線照射 (15 W の G L ランプ、紫外線波長の範囲: 253.7 nm、ランプーゼラチ

ンの距離：20 cm) でゼラチンの紫外線架橋を行った。次にこのようにして架橋を行ったゼラチンを100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、室温に放置したところ、6 時間でゼラチンは溶解したことから、このゼラチンは溶解性であることが判明した。

実施例 A-1 と同様の方法で、フィブリル長 30 ミクロンから 60 ミクロン、平均して約 45 ミクロンの e-P T F E の人工血管の方末端を閉じて、他の末端から実施例 A-1 で作成した 2.5 % のゼラチンの含水極性溶媒溶液を徐々に繰り返し注入し、ゼラチンを e-P T F E のフィブリル間隙に充填した。

このようにして 2.5 % のゼラチン含水極性溶媒溶液によりゼラチンが充填された e-P T F E 人工血管を得た。次にこの人工血管の長さ 1 cm を鋭利なメスにより切り取り、4 °C に冷却した後に 10 分間の紫外線照射 (15 W の G L ランプ、紫外線波長の範囲：253.7 nm、ランプーゼラチンの距離：20 cm) でゼラチンの紫外線架橋を行った。

次にこのようにして架橋を行ったゼラチンが充填された e-P T F E 人工血管を 100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、室温に 1 週間放置した。次いで、パラフィン包埋法を用いてこの放置後の e-P T F E 人工血管の切片 (厚さ約 10  $\mu$  m) を作成し、光学顕微鏡 (倍率約 200 倍) により観察したところ、蒸留水中で 1 週間放置後であっても、e-P T F E のフィブリル間隙にゼラチンが残存していることが判明した。このことから、溶解性である紫外線によって部分的な架橋処理を受けたゼラチンが、e-P T F E のフィブリル間隙ではその溶出が更に遅れていることが明らかとなった。

#### 実施例 A-6

(自然乾燥ゼラチンの溶解性物質としての使用)

2.5 % のゼラチン 1 グラムをテフロン (井内製作所社製) の板



の上に流してそのまま室温で室内に2日間放置してゼラチンを自然乾燥させ、ゼラチンの膜を得た。次にこの膜を1平方センチメートル取って、10分間の紫外線照射で紫外線架橋を行った。次にこのようにして架橋を行ったゼラチン膜を100mlのpH7.4の蒸留水に投入し、室温に放置したところ、24時間経過後では溶解していなかったが、3日間経過後には完全に溶解していた。このことから、溶解性であるゼラチンが自然乾燥し、紫外線架橋すれば溶解速度が低下するが、それでも溶解性を維持していることが明らかとなった。

2.5%のゼラチン含水極性溶媒溶液によりゼラチンが充填されたe-P T F E人工血管の長さ1cmを切り取り、4℃に冷却した後に室温で室内に2日間放置してゼラチンを自然乾燥させた。次にそれを10分間の紫外線照射でゼラチンの紫外線架橋を行った。次にこのようにして架橋を行ったゼラチンの充填された人工血管を100mlのpH7.4の蒸留水に投入し、スターラー（100回転／分）により攪拌しつつ室温に2週間放置した。次いで、パラフィンを用いてこの放置後のe-P T F E人工血管の切片（厚さ約10μm）を作成し、光学顕微鏡（倍率約200倍）により観察したところ、蒸留水中でスターラー（100回転／分）により攪拌しつつ2週間放置後であっても、e-P T F Eのフィブリル間隙にゼラチンが残存していることが判明した。このことから、溶解性であるゼラチンe-P T F Eのフィブリル間隙に充填させられ、自然乾燥を受け、紫外線架橋を受けると、溶解性であるにも関わらず、その溶出が極めて遅れることが明らかとなった。

#### 実施例A-7

（紫外線架橋ゼラチンの溶解性物質としての使用）

2.5%のゼラチン含水極性溶媒溶液の1グラムをテフロンの板

の上に流してそのまま 4℃に冷却し、その状態で凍結乾燥を行ない、ゼラチンの膜状のスポンジを得た。次にこの膜を 1 平方センチメートルを切り取って、実施例 A-5 と同様の方法で 10 分間の紫外線照射でゼラチンの紫外線架橋を行った。

次にこのようにして架橋を行ったゼラチンスポンジ（1 平方センチメートル）を 100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、室温に放置したところ、12 時間では溶解していなかったが 24 時間経過後には完全に溶解していた。このことから、溶解性であるゼラチンが凍結乾燥し、更に紫外線架橋をすれば溶解速度が低下するが、それでも溶解性を維持していることが明らかとなった。

2. 5%のゼラチン含水極性溶媒溶液によりゼラチンが充填された e-P T F E 人工血管の長さ 1 cm を取り、4℃に冷却した後に凍結乾燥を行った。次にそれを上記と同様の方法で 10 分間の紫外線照射で紫外線架橋を行った。次にこのようにして架橋を行ったゼラチンが充填された人工血管を 100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、室温に 1 週間放置した。実施例 A-1 と同様にして、切片を作成し、光学顕微鏡による観察したところ、1 週間経過後であっても、e-P T F E のフィブリル間隙にゼラチンが残存していることが判明した。更に、放置後 2 週間後には、上記ゼラチンが完全に消失していたことも判明した。このことから、溶解性であるゼラチンが e-P T F E のフィブリル間隙に充填させられ、凍結乾燥と紫外線架橋をうけると、溶解性であるにも関わらず、その溶出が極めて遅れていることが明らかとなった。

#### 実施例 A-8

文献（J.Biomater-Sci-Polym-Ed.1994:6, 447-461, Iwasaki et al.）記載の方法と同様にして、合成のリン脂質を得た。これは石原ら（J. Biomedical Marerials Research, 26 ; 1543-155

2 : 1 9 9 2) に記載されているリン脂質に類似した材料であり、生体適合性と抗血栓性があると言われている。この材料は一つの分子内に親水性部分と疎水性部分が共に存在する。この合成リン脂質の 5 g を 9 0 % のエタノール中に溶解し、リン脂質溶解液を得た。

上記で作成した 5 % のリン脂質の含水極性溶媒溶液 1 グラムを採取し、1 0 0 m l の p H 7 . 4 の蒸留水に投入し、室温に放置したところ、2 時間でリン脂質は溶解したことから、このリン脂質は溶解性であることが判明した。

実施例 A - 1 と同様の方法で、フィブリル長 3 0 ミクロンから 6 0 ミクロン、平均して約 4 5 ミクロンの e - P T F E の人工血管の方末端を閉じて、他の末端から上記で作成した 5 % のリン脂質の含水極性溶媒溶液を徐々に繰り返し注入し、リン脂質を e - P T F E のフィブリル間隙に充填した。

このようにして 5 % のリン脂質の充填された e - P T F E 人工血管を得た。次にこの人工血管の長さ 1 c m を切り取って 1 0 0 m l の p H 7 . 4 の蒸留水に投入し、室温に放置した。実施例 A - 1 と同様に切片を作成し、光学顕微鏡により観察したところ、3 日間経過後であっても、e - P T F E のフィブリル間隙にリン脂質が残存していることが判明した。このことから、溶解性であるリン脂質が e - P T F E のフィブリル間隙ではその溶出が極めて遅れていることが明らかとなった。

#### 実施例 A - 9

実施例 A - 1 と同様の方法で、牛の皮膚から採取した繊維状コラーゲンをペプシン等の酵素処理によって分子レベルにまで分解し、更にコラーゲン分子の一部であるテロペプチド部分を取り除いて抗原性を大幅に低下させる処置を行ってアテロコラーゲンを得た。次に、実施例 A - 1 と同様の方法で、このアテロコラーゲンの 1 分

子当たりのアミノ基の約 10%に相当する 7～8 個のアミノ基に対して炭素数 14 のミリスチレン酸を付着させることでアシル化アテロコラーゲンを得た。

次に、実施例 A-4 と同様の方法で、コラーゲン分子に残存するアミノ基全てに無水コハク酸を用いてカルボキシル基をつけることでサクシニール化を行った。

次に、このようにして得たアシル化サクシニール化を蒸留水に 5%の質量比で入れ、コラーゲン分子を膨潤させた。次にこれを静かに 40℃に加熱し、コラーゲン分子の 3 本の鎖を徐々に解くことによって、コラーゲン分子を切断することなく分解してアシル化サクシニール化親ゼラチンを作成した。

上記で得たアシル化アテロコラーゲンから作成した親ゼラチンの溶液に 3 倍量と同量の 100%エタノールをそれぞれ個別に注ぎ、良く攪拌して 1.25%及び 2.5%の濃度のゼラチンの含水極性溶媒溶液を得た。

次に、上記で作成した 1.25%と 2.5%のゼラチンの含水極性溶媒溶液を 4℃に冷却することによってゼラチンを凝固させた。次にこのゼラチン 1 グラムを採取し、凍結乾燥を行った後に 10 分間の紫外線による架橋を行い、その後 100 ml の pH 7.4 の蒸留水に投入し、室温に放置したところ、6 時間でゼラチンは溶解したことから、このゼラチンは溶解性であることが判明した。

実施例 A-1 と同様の方法で、フィブリル長 30 ミクロンから 60 ミクロン、平均して約 45 ミクロンの e-P T F E の人工血管の方末端を閉じて、他の末端から上記で作成した 1.25%のゼラチンの含水極性溶媒溶液を徐々に繰り返し注入し、更に 2.5%のゼラチンを追加して注入することで、e-P T F E 人工血管のフィブリル間隙に十分にゼラチンを充填し、そのあと 4℃に冷却し、更に

凍結乾燥を行った後に、実施例 A-7 と同様の方法で 10 分間の紫外線による架橋を行い、ゼラチンが充填された e-P T F E 人工血管を得た。

このようにして作成したゼラチンの充填された e-P T F E 人工血管の長さ 1 c m を切り取り、100 m l の p H 7. 4 の蒸留水に投入し、室温に放置した。実施例 A-1 と同様に切片を作成し、光学顕微鏡により観察したところ、2 週間経過後であっても、e-P T F E のフィブリル間隙にゼラチンが残存していることが判明した。このことから、溶解性であるアシル化サクシニール化親ゼラチンが e-P T F E のフィブリル間隙ではその溶出が極めて遅れることが明らかとなった。

#### 実施例 A-10

(人工血管の埋め込み試験)

実施例 A-9 で作成したを長さ 6 センチメートル切り取り、それをガス滅菌 (10 % のエチレンオキサイド (E O G) ガス、56 °C、12 時間) し、成犬の腹部大動脈に植え込みを行った。植え込みにあたって、人工血管は乾燥して硬い状態であったが、生理的食塩水に浸すことで人工血管は吸水性を発揮して柔軟となった。人工血管は植え込み直後、白色から赤色に変化した。血液や血漿の漏れは全く認められなかった。

対照として、ゼラチンを充填する前の e-P T F E 人工血管を同様にガス滅菌し、成犬の腹部大動脈に植え込みを行った。植え込みにあたって、人工血管は始めから乾燥していたが、柔軟であった。人工血管は植え込み直後、白色からごく少し赤色に変化した。血液の漏れはなかった。しかしながら、植え込み後 5 分経過して、人工血管の表面から、汗をかくが如く、血漿が湧き出てくる漏出現象が認められた。この現象は植え込み後約 1 時間持続し、その後次第

に漏出量が減少した。以上の結果、ゼラチンの被覆によって血漿の漏出が押さえられていたことが判明した。

このようにして植え込まれた人工血管を植え込み後 4 週間目に採取した。人工血管周囲はゼラチンを被覆した人工血管も、対照として用いた被覆していない人工血管ともに結合組織に覆われており、癒痕組織形成や異物反応等は認められなかった。人工血管内面は薄いフィブリン層に覆われており、両人工血管において、内面の治癒に差は認められなかった。この結果、ゼラチン被覆は人工血管の治癒過程に悪影響を及ぼしていないことが判明した。

植え込み後 4 週間目に採取した人工血管の断面を光学顕微鏡で観察した結果、ゼラチンを被覆した人工血管では、e-P T F E 人工血管のフィブリル間隙に無数の線維芽細胞が侵入しており、線維芽細胞の間に少数ではあるが、毛細血管も侵入しているのが観察された。

一方、対照として用いた被覆していない人工血管では、線維芽細胞の侵入はその数が少なく、毛細血管の侵入は見られなかった。この結果、ゼラチンを被覆した人工血管では周囲組織や細胞との親和性が対照の人工血管に比べて良好であることが判明した。

#### 実施例 A-11

実施例 A-9 で作成した人工血管を長さ 3 センチメートル取り、それを実施例 A-10 と同様にガス滅菌し、それを長軸方向に開いて、約 3 c m × 2 c m の膜を得た。次に線維芽細胞や毛細血管の成長、遊走を促進すると言われる basic Fibroblast Growth Factor (b F G F ; Upstate Biotechnology 社製) を 2 5 n g 作成した膜に振りかけて染み込ませ、その後にこの膜を家兎の腹部に、人工腹壁として植え込んだ。植え込みにあたっては取り扱い性等は良好であった。

対照として、ゼラチンを充填していない e-P T F E 人工血管をガス滅菌し、同様に 3 センチメートル取り、それをガス滅菌し、それを長軸方向に開いて、約 3 c m × 2 c m の膜を得た。次に線維芽細胞や毛細血管の成長、遊走を促進すると言われる basic Fibroblast Growth Factor (b F G F) を 2 5 n g 作成した膜に振りかけて染み込ませ、この膜を家兎の腹部に、人工腹壁として植え込んだ。植え込みにあたっては取り扱い等は良好であった。以上の結果、ゼラチンを被覆していてもしていなくても、肉眼的には人工腹壁としての効果は同等に良好であることが判明した。

このようにして植え込まれた人工腹壁を植え込み後 2 週間目に採取した。人工腹壁周囲はゼラチンを被覆し、b F G F を吸着させた人工腹壁も、対照として用いた被覆していない人工血管ともに結合組織に覆われており、瘢痕組織形成や異物反応等は認められなかった。しかしながらゼラチンを被覆し、b F G F を吸着させた人工腹壁周囲には無数の毛細血管の侵入が見られ、b F G F の効果が著明であった。しかしながら、対照の膜ではその様な毛細血管の侵入はほとんど見られなかった。この結果、ゼラチン被覆は人工腹膜は b F G F を吸着し、維持しており、植え込み後にそれが徐放出されていたことが判明した。

このようにして、植え込み後 2 週間目に採取した人工腹壁の断面を光学顕微鏡（倍率：2 0 0 倍）で観察した結果、ゼラチンを被覆し、b G H G を吸着させた人工腹壁では、e-P T F E 人工血管のフィブリル間隙に無数の線維芽細胞と毛細血管が侵入しているのが観察された。一方、対照として用いたゼラチンを被覆していない人工腹壁では、線維芽細胞の侵入はその数が少なく、毛細血管の侵入は見られなかった。この結果、ゼラチンを被覆した人工腹壁では b F G F の吸着維持性が優れていることが判明した。

### 実施例 B - 1

(親水性物質を含むハイブリッド材料)

5 % ヒアルロン酸 (商品名ヒアルロン酸ナトリウム、和光純薬株式会社製) の水溶液を 10 ml 作製し、等量の界面活性剤トウイーン (Tween) 20 (ICI 社製) の 10 ml を加えて十分に攪拌 (マグネチックスターラ、約 20 rpm、24 時間) して、懸濁液を作製した。次に、得られた懸濁液と等量 (等体積) の 100 % エタノールを注入して、上記懸濁液を希釈した。

次に、臨床で使用されている市販の e-P T F E グラフト (フィブリル長さ: 30  $\mu$  m、商品名インプラグラフト、インプラ社製) の長さ 5 cm、内径 6 mm の人工血管を用いて、上記した図 1 に示した方法を用いて、その方末端を鉗子にて止め、他の末端から作製した懸濁液の合計 10 ml を 200 mm Hg の圧力をかけつつ、徐々に繰り返し (約 10 回) て圧注入した。

次いで、得られた人工血管を凍結乾燥し、ヘキサメチレン ジイソシアネートを用いて架橋して、本発明のハイブリッド樹脂材料を得た。この際に用いた凍結乾燥条件、および架橋条件は、以下の通りであった。

#### <凍結乾燥条件>

マイナス 80 度で凍結させた上記人工血管をロータリーポンプで減圧し、 $10^{-3}$  mm Hg の圧で 12 時間かけて材料に含まれる水を抜き、脱水させた。

#### <架橋条件>

3 % のエポキシ化合物 (E X - 3 1 3、ナガセ化成工業株式会社、大阪) の 100 % エタノール溶液 30 ml の中に上記人工血管を浸し、摂氏 50 度で 5 時間維持させることによって、人工血管に圧注入されたヒアルロン酸をエポキシ架橋した。



## 実施例 B - 2

実施例 B - 1 で得られたハイブリッド樹脂材料における、疎水性樹脂内の多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された親水性物質の量を以下のようにして求めた。

### ＜親水性物質の量の測定＞

疎水性樹脂からなる多孔質構造体の質量を予め測定して、それを a グラムとした。次に親水性物質を界面活性剤によってミセル化させて多孔質構造体の孔の中に圧注入し、その後 100% エタノールによって界面活性剤を取り除いた後に凍結乾燥を行い、質量 (a + b) を測定した。この値から a グラムを差し引いた質量が親水性物質の乾燥状態での質量 (b グラム) とした。

上記測定の結果、実施例 B - 1 で作製した人工血管内には、ヒアルロン酸の質量比が人工血管全体の約 30% であることが判明した。この人工血管の通水量を測定したが、1 平方センチメートルあたり 1 分間に 5 ml であった。血清の漏れはなかった。この際、通水量測定、および血清の漏れ検査は、以下のようにして行った。

### ＜通水量測定＞

塩化ビニールの管（肉厚 2 mm 程度、内径 10 mm 程度、長さ 120 cm 程度）を閉鎖的に繋ぎ回路を作成し、この回路の一部に小型のポンプ（例えば、商品名：遠心型血液ポンプ HPM-15、日機装社製）を組み込んで塩化ビニール内には脱イオンした蒸留水を流した。この時の圧力をマノメーターで測定した。この方法において、回路の一部に可変性の狭窄部分を作成することで、回路内の圧力を変動させた。通水量の測定時には、この圧力を 120 mmHg に固定した。

このようにして準備した回路の一部から、加圧された水を導き、その部分に通水量を測定すべき多孔質体の膜を置いて、その膜を通

過する水の量を測定した。測定した水の量は、多孔質体の膜の面積を1平方cmに換算して1分間に通過する水の量として表示した（このような通水量測定の詳細については、文献Guidoin R, King M, Marceau D, Cardou A, de la Faye D, Legendre JM, Blais P.: Textile Arterial Prostheses: Is Water Permeability Equivalent to Porosity? J. Biomed. Mater. Res., 1987 Jan;21(1):65-87を参照することができる）。一般に、高度な多孔質の場合には1500ml以上の水が1分間に流れ、低度の多孔質の膜の場合には、この1分間に流れる水の量は50ml程度である。

#### <血清の漏れ検査>

血清の漏れは、通水率の測定と同じ装置を用いて、同様の条件下で行うことができる。この場合には、上記した蒸留水に代えて、ヒト又は牛の血清を用いる。血清通過量の表示も、同様である。血清は水より粘調度が高いため、血清の通過量は、水の通過よりも少ない量となるのが一般的である。

#### 比較例B-1

実施例B-1で用いたものと同じ人工血管を用いて、従来技術（米国特許4,193,138号）による対照の実験を行った。

すなわち、エタノールまたは界面活性剤であるトゥイーン20に浸した後、200mmHgの圧力をかけて、実施例B-1と同様に圧注入した。次いで、得られた人工血管を実施例B-1と同様に凍結乾燥し、ヘキサメチレンジイソシアネートを用いて架橋した。この際に使用したエタノール浸漬条件、およびトゥイーン20浸漬条件は、米国特許4,193,138号の方法に従った。

上記により作製した人工血管内を用いて、実施例B-2と同様の測定を行ったところ、ヒアルロン酸が人工血管全体の1.2%となっていた。これはエタノールを使用しても、トゥイーンを使用して

もほぼ同量であった。

実施例 B-2 と同様に、この人工血管の通水量を測定したが、1 平方センチメートルあたり 1 分間に 50 ml であった。血清の漏れは 1 分間に 10 ml であった。

#### 比較例 B-2

前述した実施例 B-1 ～ 2 を、ヒアルロン酸に代えてゼラチン、デキストラン、ポリエチレングリコール等をそれぞれ用いた以外は、実施例 B-1 ～ 2 および比較例 B-1 と同様の実験を行ったところ、ヒアルロン酸を用いて行ったとほぼ同じ結果が、本発明の実施例 B-1 と対照例共に認められた。

以上の実施例 B-1 ～ 2 に示すとおり、本発明によれば、容易に親水性の材料を疎水性樹脂の多孔質構造の孔および／又は間隙に均質に配することが可能であることが判明した。このような多孔質構造体は人工血管として使用することも可能であると共に、それを長軸方向に切り裂くことによって、長方形の膜状物が得られることから、それを各種のパッチ材料として使用することが可能となる。

#### 産業上の利用可能性

上述したように本発明によれば、疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された溶解性物質および／又は親水性物質とを少なくとも含むハイブリッド樹脂材料が提供される。

(1) 本発明の第 1 の態様においては、前記溶解性物質が含水極性溶媒に溶解可能であり、且つ該溶解性物質が前記多孔質構造内に配置（充填）された状態においても前記含水極性溶媒に溶解可能である。

本発明の第 1 の態様においては、疎水性の樹脂からなる多孔質構

造の孔ないし間隙内に溶解性物質を充填させることによって、溶解性物質の溶解速度を遅くさせることが可能である。

このような第 1 の態様において疎水性樹脂からなる多孔質構造の孔または間隙内に充填された溶解性物質は、生体内に配置した場合においても、一時的に疎水性樹脂からなる多孔質構造の孔または間隙からの体液や血漿の漏れを防ぐことが可能である。疎水性樹脂からなる多孔質構造の孔または間隙内に溶解性物質を充填することによって、少量の溶解性物質を用いた場合であっても、生体内等において効果的なシール状態を得ることが可能である。

第 1 の態様において、疎水性樹脂からなる多孔質構造は溶解性物質でシールされているため、生体内等でほぼ完全に水や血液を通過させない状態でも、柔軟な物性を有することが容易である。

第 1 の態様において、溶解性物質は元来溶解性であるにも関わらず、疎水性樹脂樹脂からなる多孔質構造の孔または間隙内にあって、その溶解速度が遅いため、生体内でホストの細胞が侵入してくるまでの間は、疎水性樹脂からなる多孔質構造の孔または間隙をシールしておくことが可能である。

第 1 の態様において、化学的架橋剤等を省略可能であるため、生体内に植え込んだ後でも異物反応を極めて少なくすることが容易であり、細胞の侵入を容易にさせるため、細胞組み込み型材料の素材としての使用に有利である。

本発明の第 1 の態様において、ハイブリッド樹脂材料に溶解性物質として各種薬剤を吸着することにより、該ハイブリッド樹脂材料の作用によって、それを徐放出させることが容易である。

本発明の第 1 の態様において、ハイブリッド樹脂材料に溶解性材料として血液凝固を促進させる薬剤を吸着させた場合は、血液に接するまたはその周辺領域での止血を目的とした材料に利用可能で、

その材料表面においての血栓形成を促進させることが可能である。

本発明のハイブリッド樹脂材料に溶解性材料として細胞増殖を促進させる薬剤を吸着させた場合は、組織治癒や再生を促進させる材料に利用可能で、材料表面においての細胞の増殖、遊走、組織構築等を誘導することが可能である。

本発明のハイブリッド樹脂材料に溶解性材料として細胞増殖を阻止する薬剤を吸着させた場合は、組織治癒や再生を制御させる材料に利用可能で、材料表面においての細胞の増殖、遊走、組織構築等を制限させたり阻止することによる組織過剰増殖を阻止することが可能である。

本発明のハイブリッド樹脂材料に溶解性材料として細菌感染を阻止させる薬剤を吸着させた場合は、生体内植え込み材料または生体外で使用する材料に利用可能で、材料表面における細菌の活動を阻止し、材料の有する特性を細菌の活動のない場で副作用無く発揮させることが可能である。

(2) また、本発明の第2の態様によれば、多孔質構造の疎水性樹脂の孔および／又は間隙に親水性材料を配することが容易に可能となるため、このような態様は、以下の効果を有する。

本発明の第2の態様によれば、多孔質構造を有する疎水性樹脂の孔および／又は間隙からの液体（血清等）の漏れを防ぐことが可能である。特に、このような多孔質構造体を人工血管として使用した際に、血清の漏れを防止するために有用である。

本発明の第2の態様において親水性材料として生体内分解性の材料を使用する態様によれば、生体内に植え込んだ後、宿主の細胞がその材料と置き換わって、宿主の組織を作ることが期待され、疎水性樹脂と生体細胞とのハイブリッド型の組織を作製するのに適している。

本発明の第２の態様においては、必要に応じて親水性材料に各種細胞成長因子を絡ませることが可能であることから、一般に疎水性樹脂では不可能であった細胞の誘導等にその威力を発揮させることが可能であり、その為、人為的に意図した細胞を多く集めて、生体内で特殊な機能的組織を作製することができる。

本発明の第２の態様においては、必要に応じて親水性材料に各種の細胞成長を阻止する因子を絡ませることが可能であることから、細胞を付着させない環境を生体内に形成させることが可能となる。この特性を活用すると、細胞で何時までも覆われない組織が生体内で作られ、各種センサーのセンシングを行う良好な場を生体内で提供することが可能となる。

更に、本発明の一態様によれば、例えば親水性物質のハイドロゲルを界面活性剤と共に強く攪拌することでハイドロゲル微細粒子のミセル懸濁状態の液を作製し、この状態のハイドロゲルを疎水性樹脂によって形作られた狭い空間に圧注入させた後に、界面活性剤を除去することにより、該親水性物質を疎水性樹脂によって形作られた狭い空間に残すという新たなコンセプトに基づく技術が提供される。

## 請 求 の 範 囲

1. 疎水性樹脂からなる多孔質構造と、該多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された溶解性物質とを少なくとも含み；

前記溶解性物質が極性溶媒に溶解可能であり、且つ該溶解性物質が前記多孔質構造内に配置された状態においても前記極性溶媒に溶解可能であるハイブリッド樹脂材料。

2. 前記溶解性物質が単独で前記極性溶媒に完全に溶解する溶解時間（S）と、前記疎水性樹脂材料内における溶解時間（H）との比（H／S）が1.2以上である請求項1記載のハイブリッド樹脂材料。

3. 前記溶解性物質がその分子中に親水性部分と疎水性部分とを有する請求項1または2記載のハイブリッド樹脂材料。

4. 前記溶解性物質がpH約7～7.4で溶解性を有する請求項1～3のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

5. 前記疎水性樹脂がフッ素樹脂である請求項1～4のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

6. 前記多孔質構造がフィブリル構造を有する請求項1～5のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

7. 前記溶解性物質の少なくとも一部が天然由来材料またはその誘導体である請求項1～6のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

8. 前記溶解性物質の少なくとも一部が、合成高分子由来材料またはその誘導体である請求項1～7のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

9. 前記溶解性物質の少なくとも一部が、自然界には元来存在せ

ず、人為的に生物を用いて作らせた材料由来の材料またはその誘導体である請求項 1 ～ 7 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

10．前記溶解性物質の少なくとも一部が、アシル基、アルキル基、および／又はフェニール基から選ばれた疎水性基を少なくとも 1 種類有する材料である請求項 1 ～ 10 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

11．前記溶解性物質の少なくとも一部が、ヒドロキシ基、カルボキシ基、アミノ基、カルボニル基、および／又はスルフォ基から選ばれた親水性基を少なくとも 1 種類有する材料である請求項 1 ～ 10 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

12．前記溶解性物質の少なくとも一部が、1 種類以上の親水性基を少なくとも有し、且つ、1 種類以上の疎水性基を有する材料である請求項 1 ～ 11 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

13．前記溶解性物質の少なくとも一部が、1 種類以上の親水性基を材料と、1 種類以上の疎水性基を有する材料との混合物である請求項 1 ～ 11 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

14．前記溶解性物質の少なくとも一部が、極性溶媒に溶解、分散または懸濁可能である請求項 1 ～ 13 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

15．前記溶解性物質の少なくとも一部が、化学架橋剤によって部分的に架橋されている請求項 1 ～ 14 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

16．前記溶解性物質の少なくとも一部が物理的エネルギーによって部分的に架橋されている請求項 1 ～ 14 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

17．前記溶解性物質の少なくとも一部が、架橋処理後も pH 約 7 ～ 7.4 で溶解性を有する請求項 15 または 16 に記載のハイブリッド樹脂材料。



リッド樹脂材料。

18. 前記溶解性物質の少なくとも一部が、細胞成長因子、サイトカイン、抗生物質、抗凝固性物質、凝固促進物質、細胞成長抑制因子、薬理学的作用を有する薬剤、等のグループから選ばれた一つ以上の生理活性物質を吸収または吸着により保持可能な請求項1～17のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

19. 前記疎水性樹脂からなる多孔質構造が、多数の結節部分と個々の結節間を結ぶ細いフィブリル部分とが繰り返して交互に存在する構造の延伸ポリテトラフルオロエチレン（e-P T F E）のフィブリル繊維からなる請求項1～18のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

20. 極性溶媒に溶解可能な溶解性物質の極性溶媒への溶解または分散液を、疎水性樹脂からなる多孔質構造の孔および／又は間隙内に配置することにより、該溶解性物質が前記多孔質構造内に配置された状態においても前記極性溶媒に溶解可能なハイブリッド材料を形成するハイブリッド樹脂材料の製造方法。

21. 前記多孔質構造の片面または両面から5 mm H g以上、300 mm H g以下の範囲内で陽圧または陰圧の圧力差を与えることにより、該多孔質構造の孔および／又は間隙内に前記溶解性物質を配置する請求項20記載のハイブリッド樹脂材料の製造方法。

22. 前記多孔質構造の孔および／又は間隙内に前記溶解性物質を配置した後に、該溶解性物質を凍結乾燥処理又は自然乾燥処理する請求項20または21記載のハイブリッド樹脂材料の製造方法。

23. 前記多孔質構造の孔および／又は間隙内に前記溶解性物質を配置した後に、該溶解性物質を架橋処理する請求項20または21記載のハイブリッド樹脂材料の製造方法。

24. 前記溶解性物質の架橋が、物理的エネルギーによる部分的

架橋である請求項 2 3 記載のハイブリッド樹脂材料の製造方法。

2 5 . 前記溶解性物質の架橋が、化学架橋剤による部分的架橋である請求項 2 3 記載のハイブリッド樹脂材料の製造方法。

2 6 . 疎水性樹脂からなる多孔質構造体と、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された親水性物質とを少なくとも含み；

前記疎水性樹脂と親水性物質との合計質量に対する親水性物質の質量比が、乾燥状態で 2 % 以上であるハイブリッド樹脂材料。

2 7 . 前記親水性物質の少なくとも一部が生体内分解性である請求項 2 6 に記載のハイブリッド樹脂材料。

2 8 . 前記疎水性樹脂が、複数の結節と、各結節間を結ぶフィブリル構造とを交互に有するフッ素樹脂、又は延伸ポリテトラフルオロエチレン（e - P T F E）である請求項 2 6 または 2 7 に記載のハイブリッド樹脂材料。

2 9 . 前記親水性物質の少なくとも一部が、天然由来材料又はその誘導体である請求項 2 6 ～ 2 8 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

3 0 . 前記親水性物質の少なくとも一部が、合成高分子由来材料又はその誘導体である請求項 2 6 ～ 2 8 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

3 1 . 前記親水性物質の少なくとも一部が、人為的に生物を利用して作製された非天然物たる材料又はその誘導体である請求項 2 6 ～ 2 8 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

3 2 . 前記親水性物質の少なくとも一部が、負荷電部分を有する請求項 2 6 ～ 2 8 のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

3 3 . 前記親水性物質の少なくとも一部が、化学架橋または物理架橋によって部分的に架橋されている請求項 2 6 ～ 2 7 のいずれか

に記載のハイブリッド樹脂材料。

34. 前記親水性物質の少なくとも一部が、細胞性因子、サイトカイン、抗生物質、抗凝固性物質、凝固促進物質、細胞成長抑制物質、薬理学的作用を有する薬剤からなる群から選ばれた一つ以上の生理活性物質を、吸収又は吸着により保持可能な物質である請求項26～33のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

35. 前記親水性物質が、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、ポリ乳酸-ポリグリコール酸共重合体、生分解性（3-ヒドロキシルブチレート-4-ヒドロキシルブチレート）ポリエステル重合体、ポリジオキサン、ポリエチレングリコール、コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、フィブリン、キトサン、キチン、フィブロイン、セルロース、ムコ多糖類、ビトロネクチン、フィブロネクチン、ラミニン、アルギン酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、ポリアミノ酸、澱粉、デキストリン、デキストラン、アガロース、ペクチン、マンナン、およびそれらの誘導体からなる群から選ばれた一つ以上の物質を含む請求項26～34のいずれかに記載のハイブリッド樹脂材料。

36. 疎水性樹脂からなる多孔質構造体と、その多孔質構造を構成する孔および／又は間隙内に配置された生体内分解性の親水性物質とのハイブリッド樹脂材料を作製するための製造方法であって、

（a）親水性物質のハイドロゲルと、界面活性剤とを少なくとも含むミセル懸濁液を作製し；

（b）多孔質構造の片面又は両面から陽圧又は陰圧の圧力差を与えて、前記ミセル懸濁液を疎水性樹脂内に注入し；

（c）前記界面活性剤を除き、疎水性樹脂によって囲まれた空間内に前記親水性物質を残すステップを含む製造方法。

37. 前記多孔質構造体の孔および／又は間隙内に前記親水性物

質を配置した後に、該親水性物質を凍結乾燥処理又は自然乾燥処理する請求項 36 に記載のハイブリッド樹脂材料製造方法。

38. 前記親水性物質を、物理的架橋および／又は化学的架橋により不溶化する請求項 36 または 37 に記載の製造方法。

39. 前記親水性物質を、金属イオンにより配位結合状態として不溶化する請求項 36 ～ 38 のいずれかに記載の製造方法。

40. 前記親水性物質の少なくとも一部が、生体内分解性を有するポリマーである請求項 36 ～ 39 のいずれかに記載の製造方法。

41. 前記親水性物質の少なくとも一部が、ヒドロキシ基、カルボキシ基、アミノ基、カルボニル基、および／またはスルフォ基から選ばれた親水性基を少なくとも 1 種類有する請求項 36 ～ 40 のいずれかに記載の製造方法。

42. 前記親水性物質の少なくとも一部が、蛋白、脂質、多糖類、酵素、細胞成長因子、サイトカイン、抗生物質、抗凝固性物質、凝固促進物質、細胞成長抑制因子、薬理学的作用および／又は生理的機能を有する薬剤からなる群から選ばれた 1 つ以上の物質を保持可能である請求項 36 ～ 41 のいずれかに記載の製造方法。

Fig.1

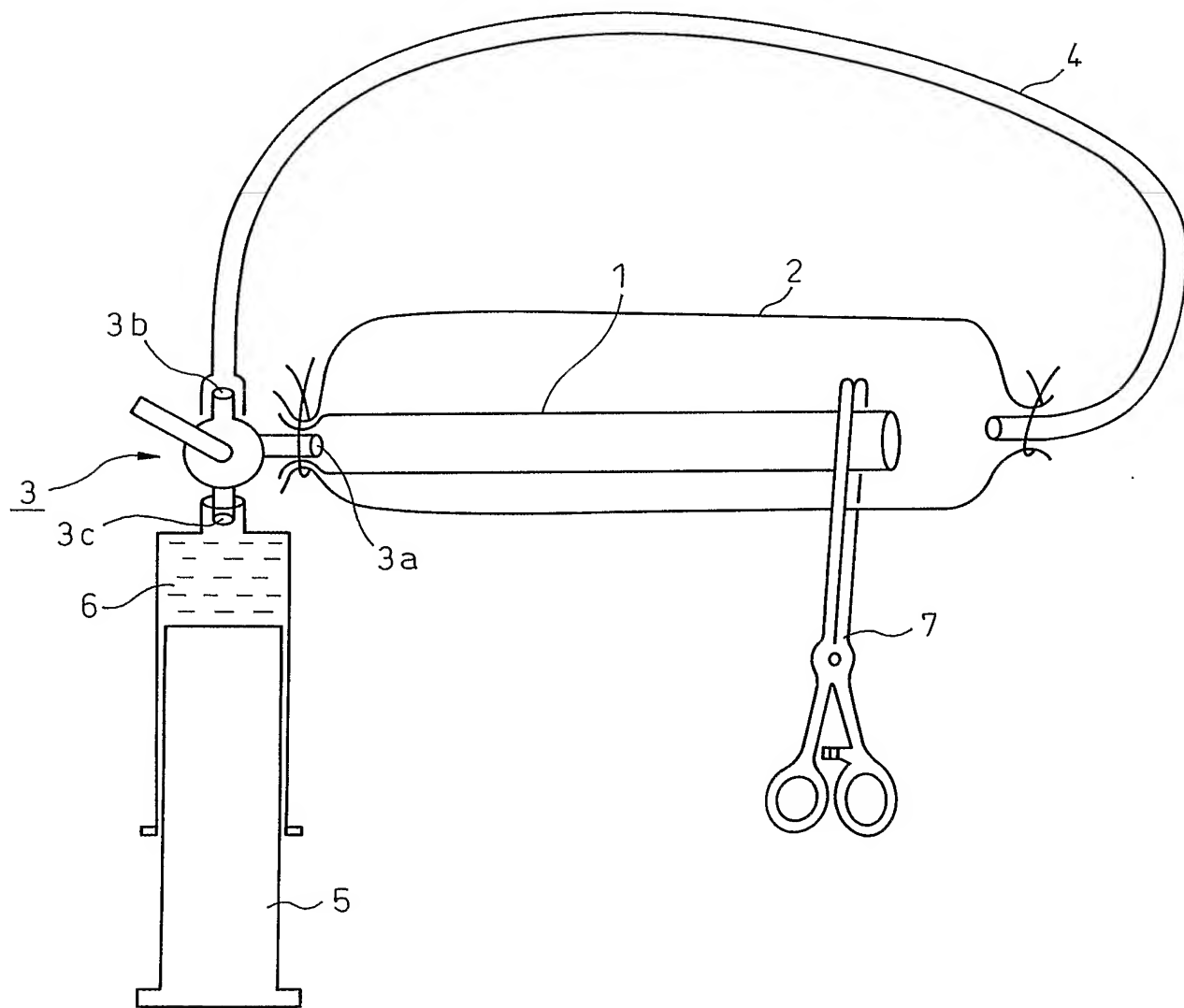


Fig.2A

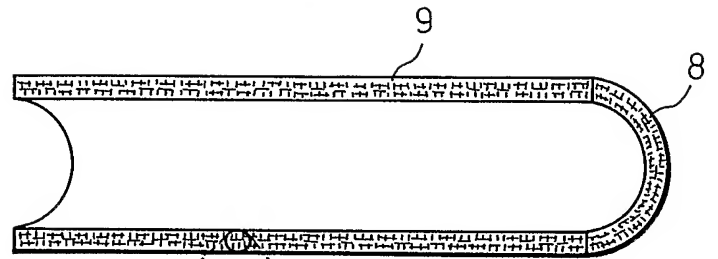


Fig.2B

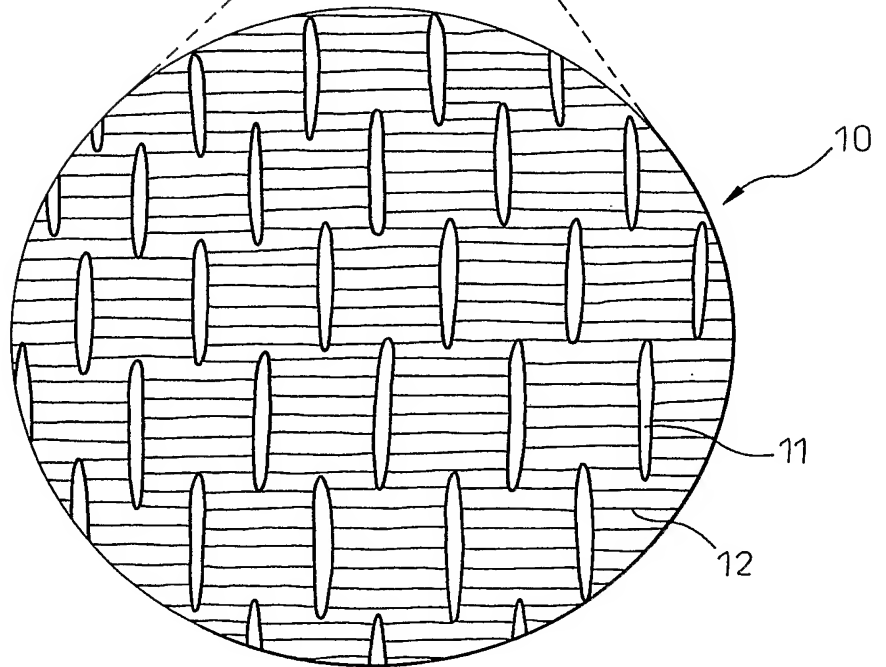


Fig.3A

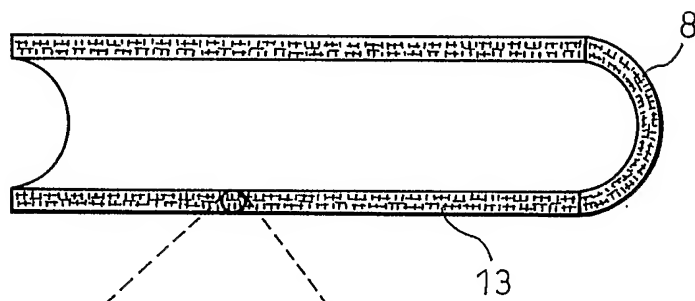
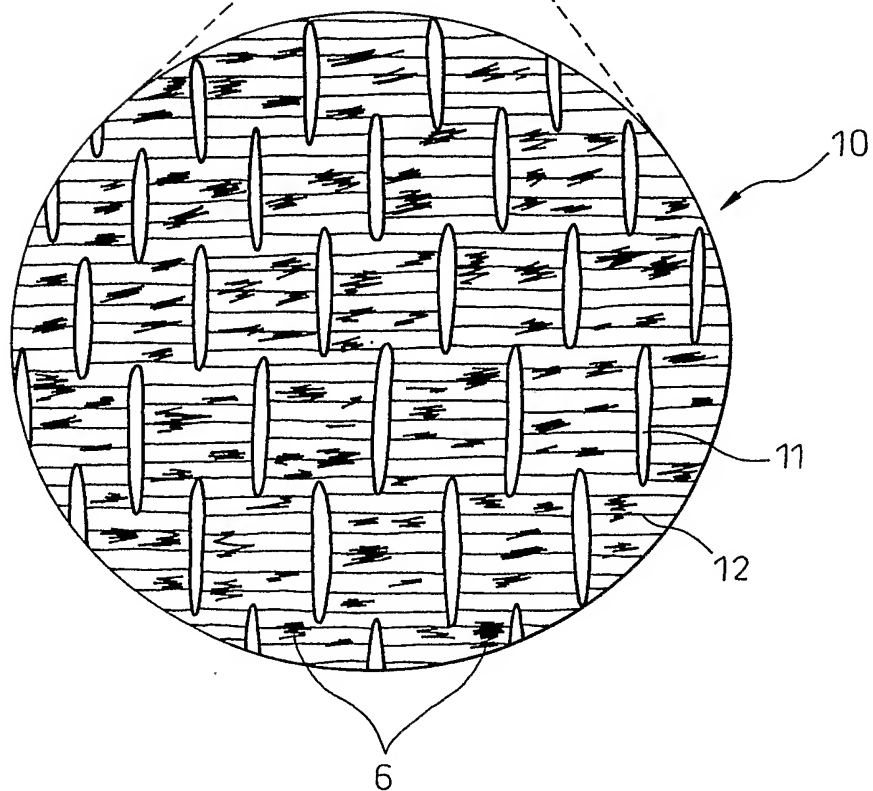


Fig.3B



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/10650

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> C08J9/36 // A61L27/16, 27/56, 27/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> C08J9/36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001  
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2001 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 3-144365 A (Nobuo KUWAHARA), 19 June, 1991 (19.06.1991), Claims; page 3, upper right column; page 4, upper left column (Family: none)	1-4, 7, 11-12, 14, 26-27, 29, 35
X	JP 8-316105 A (Nitto Denko Corporation), 29 November, 1996 (29.11.1996), Claims; Par. No. [0010] (Family: none)	1-5, 7-8, 10-12, 14, 20-22
X	EP 699710 A2 (Bridgeston Corporation), 06 March, 1996 (06.03.1996), Claims; page 8, lines 11 to 18; page 8, line 56 to page 9, lines 1 to 8 & JP 8-127669 A Claims; Par. Nos. [0029], [0039] & US 5716997 A	1-4, 7-8, 10-12, 14, 20, 22

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance"E" earlier document but published on or after the international filing  
date"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
25 February, 2002 (25.02.02)Date of mailing of the international search report  
05 March, 2002 (05.03.02)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C08J9/36 // A61L27/16, 27/56, 27/44

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C08J9/36

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-2001年

日本国実用新案登録公報 1996-2001年

日本国登録実用新案公報 1994-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 3-144365 A (桑原信雄) 1991.06.19, 特許請求の範囲, 第3頁 右上欄, 第4頁左上欄 (ファミリーなし)	1-4, 7, 11-12, 14, 26-27, 29, 35
X	JP 8-316105 A (日東電工株式会社) 1996.11.29, 特許請求の範 囲, 【0010】 (ファミリーなし)	1-5, 7-8, 10- 12, 14, 20-22
X	EP 699710 A2 (Bridgeston Corporation) 1996.03.06, 特許請求 の範囲, 第8頁第11-18行, 第8頁第56行-第9頁第1-8行 &JP 8-127669 A, 特許請求の範囲, 【0029】, 【0039】 &US 5716997 A	1-4, 7-8, 10- 12, 14, 20, 22

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25.02.02

国際調査報告の発送日

05.03.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 靖恵



4 J

9553

電話番号 03-3581-1101 内線 3455